

UNIVERSIDAD NACIONAL

Sistema de Estudios de Posgrado (SEPUNA)

Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT)

Maestría en Apicultura Tropical (MAT)

Determinación de la calidad de la miel y origen botánico asociado en muestras colectadas en comunidades ubicadas en la cuenca del río Barranca, Costa Rica.

Fabiana Ivonne Salas Eichenbrenner

Trabajo presentado para optar al grado de Máster en Apicultura Tropical. Cumple con los requisitos establecidos por el Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional.
Heredia. Costa Rica.

Campus Pbro. Benjamín Núñez

Heredia, Costa Rica

Noviembre, 2023

Profesores - Práctica Profesional:

M.Sc. Eduardo Herrera Rojas

PhD. Gabriel Zamora Fallas

PhD. Johan van Veen

Tutores:

M.Sc. Eduardo Umaña Rojas

M.Sc. Luis Sánchez Chaves

Este trabajo se realizó bajo el auspicio del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), de la Universidad Nacional.

Agradecimientos

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que contribuyeron de manera significativa a la realización de este trabajo de investigación.

A mi familia que, a pesar de la distancia, me brindó apoyo incondicional durante todo este proceso. Su paciencia, amor y comprensión fueron fundamentales para mantenerme firme, enfocada y motivada en los momentos más desafiantes.

A mis amigos, quienes estuvieron a mi lado en las buenas y en las malas, les agradezco por ser una fuente constante de ánimo. Su apoyo y amistad son invaluable. En especial a Fulvio, Diana y Alberto, por brindarme su amistad y haberme hecho parte de su familia.

A mis tutores, MSc. Eduardo Umaña y MSc. Luis Sanchez, por su guía, paciencia y sabiduría a lo largo de este viaje académico.

A Nathalia Alfaro, Natalia Fallas, Mario Gallardo y Paola Hernández, quienes generosamente ofrecieron su tiempo, conocimiento y asistencia durante la realización de este trabajo, les agradezco profundamente. Su colaboración desinteresada hizo posible superar obstáculos y completar este proyecto con éxito.

Por último, a todo el personal académico y administrativo del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), por proporcionar los recursos y el ambiente propicio para llevar a cabo esta investigación.

Este logro no hubiera sido posible sin el apoyo de todas estas personas y de muchas otras que estuvieron a mi lado en este viaje.

Gracias por ser parte de mi historia y por creer en mí.

Dedicatoria

A Dios Universo, fuente de fortaleza y sabiduría,

A mis amados padres, Teodoro y Liza, quienes han sido mi apoyo constante a lo largo de mi vida,

A mi querido hermano Santiago, quien me ha acompañado desde siempre.

A la Humanidad, con la esperanza de que nuestras acciones, sean pequeñas o grandes, puedan dejar un impacto duradero en el mundo que compartimos.

Este trabajo de investigación es un aporte a las generaciones futuras, deseando que de alguna manera contribuya a dejar la semilla de un mundo más sostenible y armonioso para quienes nos sucederán. Mi pasión y amor por las abejas, esas criaturas pequeñas, incansables polinizadoras que sostienen la vida en nuestro planeta, me han inspirado y llevado a profundizar más sobre ellas y las maravillosas cosas que crean y construyen con trabajo y amor. Que esta pasión se refleje en estas páginas y sirva como un recordatorio de la vital función que desempeñan estos pequeños seres en nuestra existencia.

Con compromiso, esperanza, amor y pasión,

Fabiana Ivonne

INDICE

RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	- 1 -
Antecedentes	- 2 -
Justificación	- 3 -
OBJETIVOS	- 5 -
Objetivo General	- 5 -
Objetivos Específicos.....	- 5 -
Pregunta de investigación	- 5 -
Hipótesis	- 5 -
MARCO TEORICO.....	- 6 -
Calidad de la miel	- 6 -
Miel de abejas	- 6 -
Parámetros fisicoquímicos de la miel de abejas	- 6 -
Humedad	- 7 -
Acidez libre	- 7 -
Hidroximetilfurfural (HMF)	- 8 -
Enzimas	- 8 -
Azúcares.....	- 9 -
Viscosidad.....	- 9 -
Origen botánico y análisis melisopalinológico	- 10 -
MATERIALES Y MÉTODOS	- 11 -
Sitio experimental	- 11 -
Unidad experimental	- 11 -
Metodología	- 12 -
Análisis de contenido de agua.....	- 12 -
Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF)	- 12 -
Análisis de la acidez libre	- 12 -
Análisis de la actividad de la enzima diastasa	- 13 -

Determinación de azúcares por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).....	- 13 -
Viscosidad.....	- 13 -
Análisis Melisopalinológico de las muestras de miel mediante el método de tinción con safranina.....	- 14 -
Análisis de datos	- 15 -
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 16 -
Análisis de contenido de agua y viscosidad:.....	- 16 -
Determinación del contenido de Acidez libre:.....	- 18 -
Determinación del contenido de Hidroximetilfurfural (HMF) y actividad de la enzima Diastasa:	- 20 -
Determinación del contenido de Azúcares:	- 23 -
Análisis melisopalinológico:.....	- 25 -
CONCLUSIONES	- 33 -
RECOMENDACIONES.....	- 34 -
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	- 36 -

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de contenido de agua y viscosidad obtenidos en las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> procedentes de las comunidades de la cuenca del Río Barranca....	- 16 -
Tabla 2. Porcentaje de contenido de acidez libre obtenidos en las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> procedentes de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.....	- 19 -
Tabla 3. Porcentaje de contenido de hidroximetilfurfural y actividad de la enzima diastasa obtenidos en las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> procedentes de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.	- 20 -
Tabla 4. Porcentaje del contenido de azúcares obtenidos en las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> procedentes de las comunidades de San Ramón, San Mateo y Esparza de la cuenca del Río Barranca.	- 23 -
Tabla 5. Especies botánicas identificadas en las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> procedentes de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.	- 27 -
Tabla 6. Especies botánicas identificadas con más del 45% de dominancia en las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> procedentes de las comunidades de San Mateo y Esparza	- 27 -
Tabla 7. Granos de polen identificados en las muestras de miel de <i>Apis mellifera</i> procedentes de las comunidades de San Ramón, San Mateo y Esparza.....	- 28 -

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de los valores de contenido de agua y viscosidad de las muestras de miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.	- 18 -
Figura 2. Distribución de los valores de acidez libre de las muestras de miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.	- 20 -
Figura 3. Distribución los valores de contenido de hidroximetilfurfural y actividad de la enzima diastasa de las muestras de miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.	- 23 -
Figura 4. Distribución del contenido de azúcares de las muestras de miel de abeja (<i>Apis mellifera</i>) de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.	- 25 -

RESUMEN

Este estudio consistió en determinar la calidad de las mieles de *Apis mellifera* mediante los parámetros fisicoquímicos y, el origen botánico asociado, mediante técnicas melisopalinológicas de muestras colectadas en tres comunidades de la cuenca del río Barranca, en los cantones de San Ramón y San Mateo de la provincia de Alajuela y el cantón de Esparza de la provincia de Puntarenas.

Para determinar la calidad de las mieles se realizaron varios análisis de laboratorio que utilizan parámetros fisicoquímicos distintivos. Los principales resultados indicaron que el contenido de agua, la acidez libre, la actividad de la enzima diastasa, la composición de azúcares y la viscosidad de las 12 muestras de miel analizadas cumplieron con los parámetros de calidad establecidos por el Codex Alimentario y el Reglamento técnico para miel de abeja de Costa Rica. Con respecto al contenido de hidroximetilfurfural (HMF), 11 muestras cumplieron con los parámetros de calidad establecidos y solamente una no cumplió.

Para el estudio del origen botánico se realizó mediante el análisis melisopalinológico, con la técnica de tinción con safranina, para la identificación microscópica de los granos de polen de las mieles. Se determinó que la mayoría de las mieles analizadas poseen un origen botánico multifloral o polifloral, en donde las familias más relevantes fueron: Acanthaceae, Asteraceae, Bombacaceae, Convolvulaceae, Fabaceae, Malvaceae, Moraceae, Myrtaceae, Polygalaceae y Sapindaceae.

Únicamente dos de las mieles analizadas resultaron con más del 45% de dominancia floral. Una muestra de miel proveniente de la zona de San Mateo presentó una dominancia del 47% de la especie *Brosimum alicastrum*. Mientras tanto, una de las muestras provenientes de Esparza, presentó una dominancia del 56% de la especie *Cecropia peltata*, aunque no se puede denominar miel monofloral de dicha especie, ya que el Guarumo es una fuente polinífera y no una fuente nectarífera o de miel.

Con este trabajo de investigación se pretendió generar conocimiento para contribuir con los productores apícolas de dichas comunidades, con respecto a la comprobación y regulación del cumplimiento de los estándares básicos de calidad de la miel, buenas prácticas de producción y manufactura. Además, para generar una diferenciación de las mieles que comercializan para que puedan gestionar un sello de calidad a sus productos, generando así un mayor crecimiento económico y prestigio a sus productos.

INTRODUCCIÓN

La miel es una sustancia dulce natural producida por las abejas obreras a partir del néctar de las flores que ellas pecorean o que colectan de otras partes vivas de la planta y de las excreciones de insectos chupadores de plantas (áfidos) que quedan sobre las partes vivas de las mismas. Dicha sustancia las abejas la recogen, la transforman con sustancias propias como algunas enzimas, luego la depositan, deshidratan, almacenan en los panales de cera que ellas construyen para que madure y pueda ser cosechada (Diaz-Forestier et al, 2008; FAO, 2001).

La miel también es considerada como un alimento pre-digerido compuesto, el cual está constituido principalmente, por monosacáridos, entre los cuales tenemos a la fructosa y la glucosa, así como otros disacáridos, en una proporción inferior, como la maltosa, isomaltosa, sacarosa, entre otros (Crane, 1976).

Las mieles varían en gran medida de una región a otra, tanto en contenido polínico, como en las características organolépticas y fisicoquímicas que presentan. Dichas características garantizan el poder determinar mediante análisis melisopolinológico su origen botánico, dependiendo de su lugar de procedencia y de la flora botánica circundante en el rango de pecoreo de las abejas. Uno de los propósitos de la utilización de estas técnicas es determinar las fuentes florales utilizadas por las abejas en la producción de miel, lo cual está íntimamente relacionado a su origen botánico (Vanghn y Gretchen, 2001). Adicionalmente, ciertos tipos de polen pueden ser utilizados como indicadores claves para reconocer y precisar el origen geográfico de la miel (Bedascarrasbure, 1998).

El primer requisito para garantizar que una miel sea de buena calidad es que ésta cumpla con los estándares exigidos para dicho producto, tanto por la legislación del país, como por las normas internacionales de referencia (Taylor, 2021).

Los parámetros fisicoquímicos y las características organolépticas de las mieles están directamente relacionadas con las especies vegetales de las que proceden los néctares colectados, también estos parámetros se ven influenciados por las condiciones edafoclimáticas del lugar (Diaz, 2003); así como de las prácticas de manejo implementadas por parte del apicultor durante la revisión periódica de las colmenas, la extracción, el almacenamiento y el transporte de la miel (Haydee, 1989).

La melisopolinología es una rama de la palinología, cuyo propósito es estudiar el origen botánico y geográfico de las mieles y tiene como base fundamental el análisis microscópico de

los granos de polen obtenidos por centrifugación. Con especial énfasis al análisis de las características distintivas que presenta la exina, que es el tejido más externo del grano de polen, el cual le confiere a cada grano en particular, características propias que sirven para su identificación y clasificación. Con esta técnica es posible identificar el origen floral y geográfico de las mieles producidas por la abeja (Louveaux et al., 1970; Tellería, 1997; Chifa et al., 2002).

Antecedentes

La miel de abejas para consumo directo deberá cumplir con los requisitos especificados en cuanto a características físicas y químicas, establecidos por el Codex Alimentario, los Métodos Armonizados de la Comisión Internacional de la Miel y el Reglamento Técnico RTCR 500: 2020 para la miel de abeja de consumo nacional, así como las pruebas estandarizadas que se realizan en el Programa de Química Apícola del CINAT. El riguroso cumplimiento de estos parámetros asegura que la miel mantenga la calidad y pureza de este producto natural.

Es importante indicar que a nivel internacional se han realizado investigaciones que involucran el estudio de los parámetros fisicoquímicos y melisopalinológicos (Terrab et al., 2004; Wang et al., 2015; Piazza et al., 2016), como también a nivel regional, continuamente se realizan investigaciones que involucran el estudio de los parámetros fisicoquímicos y melisopalinológicos para caracterizar mieles y garantizar su calidad (Ballesteros et al, 2019; Bobis et al; 2020; Pérez, 2020; Saénz, 2020; Morales, 2021). En el mismo sentido, en el Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT) como parte del proceso formativo de la Maestría en Apicultura Tropical (MAT), se han realizado investigaciones similares cuyas metodologías han sido consideradas para la elaboración de este trabajo de investigación. Una de ellas se titula “*Caracterización Fisicoquímica y Origen Botánico de Muestras de Mieles de Apis mellifera, de la Provincia de Chiriquí-Panamá.*”, cuyo autor es Gutiérrez (2019). El otro trabajo de investigación se titula “*Caracterización por zona y procedencia floral y determinación de la calidad de la miel de Apis mellifera comercializada por la empresa Blue zones.*”, cuyo autor es Taylor (2021).

En el programa de Química Apícola en asocio con el programa de Química Medicinal y el programa de Ecología y Polinización, se han realizado investigaciones sobre la composición y calidad de mieles en Costa Rica y métodos melisopalinológicos (Sanchez, 2001; Umaña, 2006; Zamora et al., 2012).

Justificación

En Costa Rica existen algunos estudios realizados sobre la calidad y/o caracterización fisicoquímica y origen botánico de mieles de *Apis mellifera* mediante técnicas melisopalinológicas como los trabajos realizados por Taylor (2021), Deras-López (2021) y Zamora et al. (2021), sin embargo los mismos no abarcan todas las zonas productoras del país, por lo que se hace necesario realizar estudios fisicoquímicos con la asociación botánica de ellas para determinar la calidad de las mieles y su origen en la región occidental de Costa Rica, específicamente de algunas comunidades ubicadas en la cuenca del Río Barranca.

La composición química de la miel depende principalmente de las fuentes vegetales de las cuales se deriva, pero también de la influencia de factores externos, como el clima, el manejo de extracción y almacenamiento por parte del apicultor o comercializador. Un mal manejo de la miel puede reducir su calidad; los factores que más influyen en ello son las altas temperaturas, el tiempo de almacenamiento y contenido de humedad superior a 21%, los cuales ocasionan fermentaciones, formación de hidroximetilfurfural, pérdida de la actividad enzimática, cambio del sabor, oscurecimiento y crecimiento microbiano en la miel. (Mora et al., 2005).

Dichos parámetros son usados ampliamente en los controles de rutina de la calidad de las mieles a nivel internacional. Los métodos han sido validados y normalizados por la Comisión Internacional de la Miel (IHC) y pueden ser usados dentro del alcance del Codex Alimentario (Bogdanov et al., 2004).

Además, los métodos microscópicos como el análisis melisopalinológico, permiten la identificación del origen botánico de las mieles, de forma que se puedan clasificar las mismas según el recurso floral utilizado por las abejas para coleccionar el néctar. Mediante esta técnica se permite dilucidar si hay fuentes primarias dominantes, que le brindan ciertas características organolépticas propias a la miel y que le pueden conceder a la miel una denominación de origen de tipo monofloral, o si por el contrario son mieles multiflorales o poliflorales, cuando no hay una fuente dominante según criterios internacionales, además, permitirá conocer el origen geográfico del producto. (Sawyer, 1988).

La apicultura debe estar orientada no solo a incrementar la producción, sino también a conservar la calidad mediante un manejo adecuado. Las características fisicoquímicas son de suma importancia en la industria alimentaria y de interés para los consumidores, ya que presenta propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antioxidantes y bioquímicas; estas

características brindan al consumidor información relevante en cuanto a los beneficios que posee la miel de abejas con respecto a sus propiedades terapéuticas, su valor nutricional y su sabor. Estos parámetros son de importancia por lo que dan credibilidad al producto que se está comercializando y consumiendo, demostrando la calidad, el manejo higiénico y la aplicación de buenas prácticas de este, lo cual fue de inspiración y motivación para la realización de este trabajo de investigación.

Además, dicha investigación contribuirá con los productores de miel de abejas de dichas comunidades con respecto a la comprobación y regulación del cumplimiento de los estándares básicos de calidad de miel, también en forma indirecta, se puede valorar el efecto de las capacitaciones recibidas durante la ejecución del proyecto: “Fortalecimiento de las capacidades productivas en personas apicultoras de la zona de la Cuenca de los ríos Jesús María y Barranca y, la cuenca media y baja del Grande de Tárcos y los Corredores Biológicos Montes del Aguacate y Paso Las Lapas” del PNUD; en donde se brindaron talleres de buenas prácticas de producción apícola, enfocadas en manejo estacionario de las colmenas. Así mismo, esta investigación dará una diferenciación de las mieles que comercializan para generar así un valor agregado, posicionando su producto y permitir que se les otorgue un sello de calidad, generando así un mayor crecimiento económico y prestigio a sus productos. (Taylor, 2021).

OBJETIVOS

Objetivo General

- Determinar la calidad de las mieles mediante los parámetros fisicoquímicos y el origen botánico, en comunidades de la cuenca del Rio Barranca, Costa Rica.

Objetivos Específicos

- Analizar las muestras de miel de abejas *Apis mellifera*, mediante parámetros fisicoquímicos, para determinar la calidad.

- Identificar el origen botánico de las muestras de miel de abejas *Apis mellifera*, mediante técnicas melisopalinológicas, para determinar las especies botánicas relevantes.

Pregunta de investigación

¿Cuáles son los parámetros que otorgan la calidad a las mieles colectadas en las comunidades de la cuenca del Rio Barranca, de acuerdo con su origen floral, procedencia geográfica y características fisicoquímicas?

Hipótesis

a. El 100% de las muestras de miel de abejas *Apis mellifera* proceden de fuentes multiflorales o poliflorales.

b. El 100% de las muestras de miel de abejas *Apis mellifera*, cumplen con los parámetros de calidad establecidos por las normas internacionales vigentes para miel de abejas.

MARCO TEORICO

Calidad de la miel

Para que sea efectivo el control de calidad de mieles, en Costa Rica, se requiere el cumplimiento y la observancia del artículo tercero del Reglamento técnico RTCR 500: 2020 del MEIC-MAG, que trata sobre Productos apícolas, específicamente lo definido sobre la Miel de abejas. En dicha normativa, se establecen los requisitos y características que debe cumplir la miel de abejas para su cosecha, presentación, comercialización y consumo directo.

Es de suma importancia garantizar que, la miel de abejas que se va a comercializar no deberá contener ningún ingrediente adicional, incluidos los aditivos alimentarios, ni la adición de alguna que no sea miel de abejas. Tampoco deberá contener materia, sabor o aroma que hayan sido absorbidas durante su procesamiento y almacenamiento. Asimismo, no deberá haber comenzado a fermentar, presentar efervescencia, tampoco calentarse ni elaborarse la miel de abejas en medida tal que se modifique su composición esencial y/o se deteriore su calidad, tampoco producir gases o tener excesos de espuma (MEIC-MAG RTCR 500, 2020).

Miel de abejas

La miel es una sustancia dulce producida por las abejas *Apis mellifera*, que procede del néctar de las flores que ellas pecorean donde las abejas obreras la recogen, transforman, combinan con sustancias específicas propias y la almacenan en panales en la colmena; de los cuales se extrae el producto maduro, sin adición de otras sustancias, garantizando su pureza y calidad (Saínz-Laín y Gómez-Ferreras, 2000).

Cuando se consume, esta sustancia puede ser utilizada por el organismo sin requerir de otras transformaciones, constituyendo de esta manera, una fuente energética inmediata para la célula, rica en carbohidratos de fácil digestión. Su composición química es compleja y varía dependiendo del origen botánico, de las condiciones climáticas y edafológicas de los sitios donde se encuentran ubicados los apiarios. (Vit et al., 2008a).

Parámetros fisicoquímicos de la miel de abejas

Desde el punto de vista de la composición química, la miel varía en su composición dependiendo de la fuente de néctar de las plantas de las cuales procede, las prácticas de manipulación y manejo del apicultor, el clima y las condiciones ambientales (Deras-López, 2021).

Según Bogdanov (2009), la miel es una solución acuosa concentrada de azúcares, principalmente glucosa y fructosa, junto con otros compuestos como agua, minerales, enzimas, vitaminas, antioxidantes y pequeñas cantidades de otras sustancias orgánicas. La miel es conocida por su sabor dulce, aroma característico y sus propiedades beneficiosas para la salud.

Humedad

El contenido de agua depende de la composición de los azúcares presentes en la miel, principalmente del contenido de glucosa y de la relación de glucosa/fructosa, de las condiciones ambientales y la cristalización. La humedad de la miel es un parámetro que se utiliza para predecir el intercambio de humedad con el ambiente, ya que la miel gana o pierde humedad cuando se expone a diferentes valores de humedad relativa ambiental. (Gleiter et al., 2006; Chirife, Zamora y Motto, 2006; Roudaut y Debeaufort, 2011).

El contenido de agua de la miel suele oscilar entre un 13 y 25% (Simal et al., 1983), dependiendo de las condiciones climáticas de la región donde están ubicadas las colmenas; lo cual influye en la humedad del néctar y el grado de maduración de la miel alcanzado en la colmena (White, 1975; Perez-Arquillue, 1995). El Reglamento Técnico para Miel de Abejas de Costa Rica (MEIC-MAG, 2020), admite un máximo de 21% de humedad.

La miel es una solución acuosa concentrada de hasta siete azúcares, de los cuales están en mayor proporción la glucosa, fructosa y sacarosa, además constituida por maltosa, isomaltosa, maltulosa, turanosa y nigerosa. También contiene enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, sustancias antioxidantes, pigmentos, cera y granos de polen. (Belitz y Grosh, 1988).

La fermentación de las mieles depende esencialmente de la contaminación inicial, el tiempo y temperatura de almacenamiento y el contenido de humedad (White, 1975), siendo el contenido de humedad la causa más importante (Sanz et al., 2002).

Acidez libre

La acidez libre en miel de abejas es indicativa del grado de frescura. Está relacionada con la probable fermentación por desarrollo de microorganismos y con el sobrecalentamiento que se refleja con un alto valor de acidez. Este parámetro es importante ya que indica un valor alto en caso de haberse usado ácido láctico, oxálico o fórmico para combatir *Varroa destructor*. (OIRSA, 2004).

La acidez se debe a la presencia de ácidos orgánicos en equilibrio con sus lactonas e iones inorgánicos, cuyos ácidos son constituyentes de la miel (Pérez-Arquillué et al., 1994). Los ácidos de la miel se originan de las secreciones de las glándulas salivares de la abeja que producen los procesos enzimáticos y fermentaciones (Graca, 1987).

La acidez suele ser elevada en mieles fermentadas, este parámetro no debe superar los 50 miliequivalentes por kilogramo. Los valores promedio de pH normales para una miel se encuentran comprendidos entre 3.0 y 4.5 debido a la presencia de ácidos orgánicos. (Mato et al., 1997).

Hidroximetilfurfural (HMF)

El hidroximetilfurfural es un compuesto furánico producido por la degradación del azúcar por deshidratación de hexosas en un medio ácido. (Wunderlin et al., 1998; González et al., 2000; Sanz et al., 2002; Spano et al., 2006; Cavia et al., 2007; Turhan et al., 2008; Islam et al., 2014; Ribeiro De Oliveira Resende et al., 2014;). Es un parámetro que da referencia a la frescura de la miel, ya que está ausente o presente en pequeñas cantidades en las mieles frescas. Los altos valores de HMF están presentes de forma natural en las mieles de zonas con clima cálido, como en países tropicales y subtropicales. (Sodré et al., 2011).

La concentración de HMF aumenta durante el procesamiento térmico de la miel, también por adulteración con azúcares comerciales y es afectado durante el almacenamiento en contenedores metálicos, asimismo depende de la especie de abejas y de la fuente botánica del néctar. (Estupiñán et al., 1998; Wunderlin et al., 1998; Fallico et al., 2004, 2006; Sodré et al., 2011; Belay et al., 2013; Gokmen y Morales, 2014; Kesic et al., 2014).

Según la FAO (2001), se admite hasta un máximo de 40 mg/kg en general y un 80 mg/kg para climas tropicales.

Enzimas

Naturalmente, la miel está compuesta por pequeñas cantidades de enzimas, dentro de las cuales las más importantes son la diastasa, invertasa y glucosa oxidasa (White, 1979a). Estas enzimas son producidas en las glándulas hipofaríngeas de las abejas, por ende, son de origen animal. Las abejas agregan estas enzimas al néctar durante el proceso de formación de la miel (Doner, 2003), y estas son en gran parte las responsables de la complejidad composicional de la miel. Algunas enzimas tienen su origen a partir del néctar, melaza o polen (como la catalasa y fosfatasa ácida). En el caso de la diastasa su origen radica de microorganismos de la miel. (White, 1957; Cavia, 2002).

Una de las enzimas de mayor interés en la miel es la diastasa, que tiene la capacidad de escindir el almidón en glucosa y es muy termolábil. Su ausencia indica calentamiento y/o envejecimiento de la miel (Huidobro et al., 2005).

La mayoría de los países requieren valores mínimos para la actividad de la diastasa, la cual se degrada fácilmente con el calor y con el envejecimiento, desapareciendo la mitad de su contenido en un determinado tiempo a temperatura ambiente (Serra et al., 2000).

Azúcares

La miel es una solución de azúcar sobresaturada, donde los carbohidratos son los constituyentes principales que representan aproximadamente el 95% de materia seca. (Bogdanov et al., 2008). Las propiedades fisicoquímicas y nutricionales más importantes de la miel como la dulzura, viscosidad, higroscopicidad dependen de la composición de azúcares. (Estupiñán et al., 1998; Cavia et al., 2002; Sabatini, 2007). Además, la presión osmótica producida por una alta concentración de azúcares es un importante factor antimicrobiano presente en la miel. (Jeddar et al., 1985).

Los azúcares más predominantes en la miel son la fructosa y glucosa, constituyendo en un 38% la fructosa y un 31% la glucosa (Loveaux, 1970). La concentración de sacarosa es muy variable y depende del tipo de miel y de su estado de maduración. Cuando encontramos mieles con alto contenido de sacarosa pueden ser debido a una maduración inadecuada o alimentación artificial con jarabe de sacarosa (Serra et al., 2000). La composición de los azúcares es importante para valorar el grado de pureza de la miel (Louveaux, 1985).

Viscosidad

La viscosidad de la miel es una propiedad importante para la manipulación, procesamiento, almacenamiento y calidad sensorial, ya que determina la aceptación por parte de los consumidores. La viscosidad depende del origen botánico, humedad, temperatura, relación glucosa/fructosa, granulación y composición química de la miel. Cuanto mayor sea la temperatura y el contenido de agua, y cuanto menor es el contenido de los polisacáridos, la viscosidad de la miel será baja. (Fattori, 2004).

Según su viscosidad, la gran mayoría de las mieles pueden describirse como Newtonianas, pero algunas de ellas exhiben un comportamiento No Newtoniano, debido a la presencia de compuestos con alto peso molecular. (Stelmakiené et al., 2012).

Origen botánico y análisis melisopalinológico

Dependiendo del número de especies botánicas utilizadas en la obtención del néctar para la producción de la miel, ésta se puede clasificar en miel monofloral y multifloral o polifloral. La primera proviene totalmente en un alto porcentaje de una sola especie de plantas, lo que determina que sus características organolépticas, fisicoquímicas y microscópicas sean similares a la planta de origen; para la segunda, el número de especies es mayor a dos, y no existe una predominancia de alguna especie. (Sánchez, 2003).

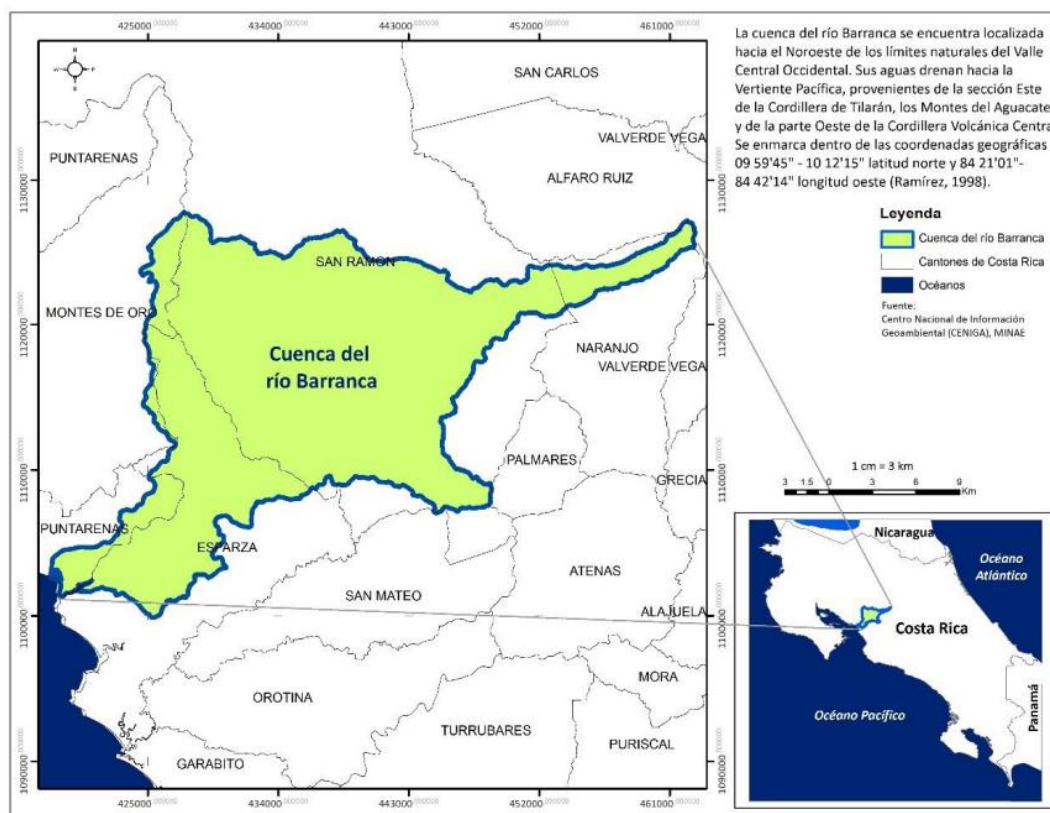
La melisopalinología es una rama dentro de la palinología, cuyo objeto es estudiar el origen botánico y geográfico de las mieles, su base fundamental reside en el análisis microscópico del sedimento obtenido por centrifugado del polen (Tellería, 1997). Se estudia el polen como un elemento morfológicamente constante en donde los granos de polen de las flores visitadas en cantidades variables quedan impregnados en el néctar, permitiendo identificar las especies importantes que proveen este recurso (Díaz, 2003).

Mediante el análisis microscópico del polen obtenido de la miel, se puede generar un listado de las especies vegetales usadas por las abejas como recurso de néctar (Montenegro, 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

El método a campo se realizó en comunidades de la cuenca del Río Barranca, Costa Rica. Específicamente, en tres comunidades de la cuenca: San Ramón, San Mateo y Esparza.



Mapa de ubicación de la cuenca del río Barranca. Fuente: SINAC, MINAE, CATIE.

El método laboratorial se realizó en el Laboratorio de Química Apícola, del Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales (CINAT), de la Universidad Nacional (UNA) de Costa Rica y, la microfotografía de polen y sus análisis se realizaron en el Programa de Ecología y Polinización de dicho instituto.

Unidad experimental

Se utilizaron 12 muestras de miel de abejas *Apis mellifera*, producidas en apiarios de las comunidades de la cuenca del Río Barranca – Costa Rica, específicamente San Ramón (muestra 1-4), San Mateo (muestra 5-8) y Esparza (muestra 9-12). Las muestras fueron de la cosecha del año 2023 y fueron determinadas al azar entre productores de la zona que participaron en el proyecto financiado por el PNUD.

Metodología

La determinación del origen botánico de las muestras de miel de abejas *Apis mellifera*, se realizó mediante el método de tinción con safranina (Loveaux et al., 1978), mientras que, para la determinación fisicoquímica, se realizó según el protocolo descrito en los Métodos Armonizados de la Comisión Internacional de la Miel (Bogdanov, 2009).

El análisis fisicoquímico de las muestras de miel se realizó siguiendo los protocolos establecidos por la Comisión Internacional de la Miel (International Honey Commission, 2009), indicados en el manual “Métodos Armonizados de la Comisión Internacional de la Miel”. Los parámetros medidos en dicho análisis fueron los de contenido de agua (%), hidroximetilfurfural (HMF) (mg/kg), actividad de la diastasa (Schade), acidez libre (meq/kg), contenido de azúcares (%) (International Honey Commission, 2009). Para la viscosidad (Pa.s) se realizó siguiendo el protocolo descrito en el manual del fabricante del equipo HAAKE™ Viscotester™ iQ Rheometers.

Análisis de contenido de agua

El valor de contenido de agua se determinó por el índice de refracción de la miel mediante un refractómetro (Milton Roy Abbe 3L, Bogdanov, 2009), en el cual se colocó la muestra de miel en estado líquido y se esperó entre 2 a 5 minutos para hacer la lectura del índice de refracción. El procedimiento se repitió 2 veces para cada muestra y se tomó el valor promedio entre las dos. Entre la lectura de cada muestra se realizó la limpieza del lente para evitar la alteración de los resultados (Gutiérrez, 2019).

Determinación del contenido de hidroximetilfurfural (HMF)

Para la determinación del contenido de HMF, se utilizó un espectrofotómetro de longitudes de ondas que incluyó 284nm y 336nm. El contenido de HMF se basó en la lectura de la absorbancia ultravioleta del HMF. Para evitar la interferencia de otros componentes de esta longitud de onda, se determinó la diferencia entre las absorbancias de la muestra acuosa y de la muestra con bisulfito. El contenido de HMF se calculó después de restar la absorbancia a 336nm. (Bogdanov, 2009; Gutiérrez, 2019)

Análisis de la acidez libre

Para la determinación de la acidez libre, se utilizó un Phímetro. El proceso se basó en la neutralización del ácido con un hidróxido, en presencia de un indicador interno llamado

fenolftaleína (Bogdanov, 2009). Las muestras de miel se disolvieron en agua, seguido se midió el pH y se tituló con una solución de hidróxido de sodio al 0.1 Molar hasta alcanzar un pH de 8.30 (Gutiérrez, 2019).

Análisis de la actividad de la enzima diastasa

La presencia de la enzima diastasa se determinó por medio de un espectrofotómetro, se utilizó una solución de almidón y yodo-yoduro. Para la misma fue necesario utilizar una ecuación de regresión y así se determinó el tiempo (tx) requerido para alcanzar la absorbancia a 0.235nm (Bogdanov, 2009; Gutiérrez, 2019).

Determinación de azúcares por medio de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

El contenido de azúcar se determinó mediante cromatografía líquida de alta presión con detección del Índice de Refracción (RI). Los picos se identificaron en función de sus tiempos de retención, en cuanto a la calificación se realizó de acuerdo con el método estándar externo en las áreas de los picos o las alturas de los picos (Bogdanov, 2009; Gutiérrez, 2019).

Viscosidad

La viscosidad se determinó mediante la utilización de un viscosímetro rotacional. Las muestras de miel se prepararon de tal forma que se aseguró de que todas estuviesen con la temperatura deseada para la medición. La temperatura típica de referencia es de 25°C.

Se procedió a la verificación del equipo, asegurándose de que esté correctamente configurado de acuerdo con las especificaciones del fabricante, esto incluyó la colocación de las piezas con la calibración correcta.

Se colocó una cantidad adecuada de miel en el recipiente de medición del viscosímetro, se aseguró que cubra completamente la miel en el recipiente y luego se procedió a la medición en donde el equipo giró a la velocidad especificada. La viscosidad se midió según la resistencia al giro del fluido. Los resultados se expresan típicamente en unidades Pascal por segundos (Pa.s). [Eduardo Umaña Rojas, comunicación personal, octubre-2023].

Análisis Melisopalinológico de las muestras de miel mediante el método de tinción con safranina

Para el análisis melisopalinológico se utilizaron 40g de miel de abejas por muestra, para identificar el origen botánico de las principales plantas utilizadas por las abejas *Apis mellifera* y se conocieron las que predominan en esa área (Sánchez, 2001).

Para la identificación del polen, se utilizó el método de tinción con safranina, el cual consistió en colocar la muestra de miel en un beaker, se agregaron 40ml de agua destilada, para luego mezclarlo hasta obtener una solución diluida. (Gutiérrez, 2019)

Luego se dividieron las muestras en dos tubos de ensayo debidamente identificados, se prepararon así las muestras por duplicado con volúmenes iguales. Una vez preparada la solución, se centrifugó durante 5 minutos a 4000 r.p.m., luego se decantaron los tubos de un golpe. Posteriormente, se colocó 1cc de safranina en los decantados, esta solución sirvió como medio de tinción de contraste de la exina del grano de polen y luego se llenaron con una solución de glicerol (50% glicerol + 50% agua). Esta solución se dejó 15 minutos para que reaccione, para luego centrifugarlo durante 5 minutos y se decantaron para dejar los tubos completamente en posición vertical (Gutiérrez, 2019).

En la parte superior del tubo quedaron embebidos los granos de polen, se secaron en la estufa por 2 horas a 60 grados y luego se guardaron en un gabinete protegido de la luz por 24 horas.

Posteriormente se procedió a preparar las láminas, de la siguiente manera:

- Las láminas se realizaron en jalea de glicerina como medio, rotulando un portaobjetos con el número de la muestra.
- Con una aguja esterilizada se cortó una porción de la jalea de glicerina y posteriormente se pasó por el tubo que contenía el glicerol con los granos de polen.
- La porción de glicerina se colocó en el portaobjetos, luego se colocó en la estufa con cuidado de no sobrecalentar la muestra y, por último, se colocó el cubreobjeto.
- Finalmente, se procedió a la revisión de las láminas en el microscopio. Para eso se realizaron dibujos y esquemas de los diferentes tipos de polen. Además, se elaboró un listado ilustrativo que contenía imágenes de los granos de polen por familia y especie (Gutiérrez, 2019).

Los tipos de polen se compararon con base de datos del Programa de Ecología y Polinización del CINAT y, catálogos y libros especializados en línea.

Análisis de datos

Se realizó un análisis descriptivo, para determinar si existen características significativas entre los grupos de mieles obtenidas en el campo.

Para el análisis melisopalinológico se utilizó estadística descriptiva para comparar el origen botánico de las diferentes muestras de miel y un análisis cualitativo con el método de *Hodges* (1984), se clasificaron los granos de polen en las siguientes categorías según su abundancia relativa en cada una de las muestras:

- Categoría 1: Polen Dominante, presente en más de 45%
- Categoría 2: Polen Secundario, presente entre 16-45%
- Categoría 3: Polen Menor Intermedio, presente entre 3-15%
- Categoría 4: Polen Menor de 3%

(Jirnny A., Corzo S., 2005; Gutiérrez, 2019)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los principales resultados obtenidos para los parámetros evaluados a las 12 muestras de miel provenientes de los diferentes productores de la zona.

Análisis de contenido de agua y viscosidad:

Los resultados obtenidos del contenido de agua y viscosidad para las 12 muestras analizadas de miel de *Apis mellifera* se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1.
Porcentaje de contenido de agua y viscosidad obtenidos en las muestras de miel de *Apis mellifera* procedentes de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.

Muestra de miel	Comunidades de la cuenca del río Barranca	Contenido de agua (%) $\pm 0,2$	Viscosidad (Pa.s)
1	San Ramón	17,8	4,5 $\pm 0,4$
2	San Ramón	18,4	2,3 $\pm 0,2$
3	San Ramón	17,2	4,9 $\pm 0,5$
4	San Ramón	17,2	4,0 $\pm 0,4$
5	San Mateo	17,6	4,1 $\pm 0,4$
6	San Mateo	15,8	9,2 $\pm 0,9$
7	San Mateo	17,8	4,9 $\pm 0,5$
8	San Mateo	17,4	5,7 $\pm 0,6$
9	Esparza	15,6	12,2 $\pm 1,2$
10	Esparza	17,6	4,4 $\pm 0,5$
11	Esparza	17,8	4,4 $\pm 0,4$
12	Esparza	16,6	8,4 $\pm 0,8$

El 100% de las muestras analizadas, en relación con el contenido de agua, se encuentran dentro del rango establecido en la normativa vigente para la regulación según la FAO (2001) y MEIC-MAG (2020) Reglamento técnico RTCR 500: 2020, ya que todas las muestras presentan valores inferiores a 21% de humedad.

El hecho de que todas presenten valores dentro del rango establecido es indicativo de buena calidad y seguridad de la miel, ya que un alto contenido de agua puede causar fermentación y reducir su vida útil (Mannan et al., 2008). Además, sugiere que la miel fue cosechada con un grado de madurez óptimo y con un porcentaje de operculación de los cuadros de miel entre un 85 a 95% (Gutiérrez, 2019).

Los resultados obtenidos en cuanto a contenido de agua en este trabajo (Tabla 1) son similares a los encontrados por Deras-López (2021) y Taylor (2021) en mieles de Costa Rica de diferentes orígenes geográficos y botánicos, las cuales presentaron porcentajes entre 16 a 18% de contenido de agua.

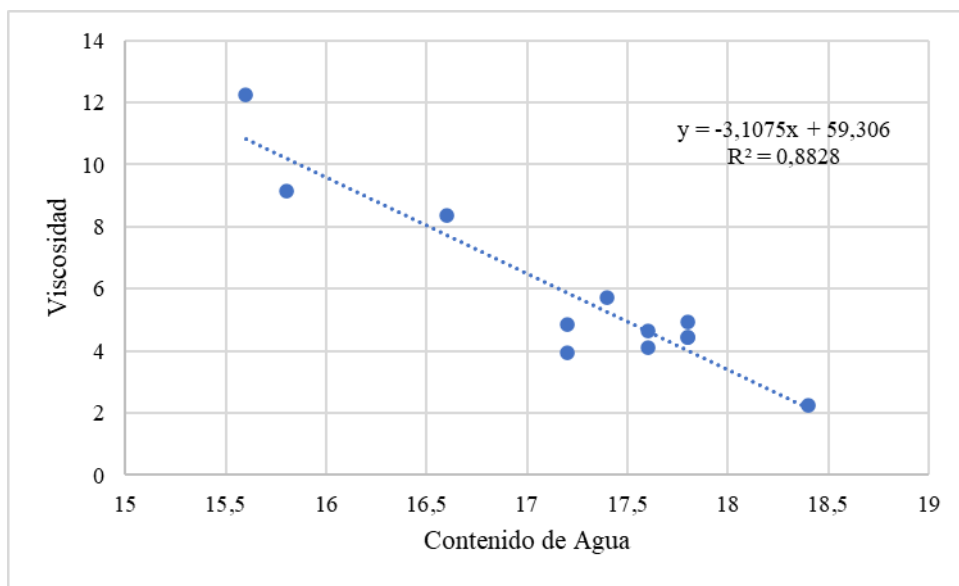
Los valores obtenidos en este trabajo indican por un lado que todas las mieles son de calidad, ya que niveles adecuados de humedad en las mieles son reflejo de frescura y estabilidad; también garantizan que estas mieles son seguras para el consumo humano, ya que mieles con alto contenido de agua son más propensas a la actividad microbiana, lo que puede derivar al deterioro del producto como también a la formación de moho.

El 100% de las muestras analizadas, en relación con la viscosidad han demostrado tener un comportamiento newtoniano. La viscosidad de las mieles es una propiedad crucial que afecta la manipulación y el procesamiento del producto, las mieles que exhiben un comportamiento newtoniano poseen viscosidad constante, lo cual facilita el manejo en diversos procesos, por ejemplo, durante el envasado y la fabricación de productos a base de miel (Sher et al., 2018).

Los resultados obtenidos en cuanto a viscosidad en este trabajo (Tabla 1) difieren a los encontrados por Witczak et al., (2011), en dónde analizaron mieles monoflorales y demostraron que presentaban un comportamiento No Newtoniano, esto podría estar relacionado con el hecho de que mieles monoflorales poseen cantidades relativamente altas de sustancias de alto peso molecular (oligosacáridos y proteínas) y menor contenido de agua; mientras que en mieles multiflorales, como es el caso de las muestras presentes en este trabajo de investigación, demostraron un comportamiento Newtoniano, en donde la viscosidad no dependía sobre la velocidad de corte (Sopade et al., 2002; Yoo, 2004; Juszczak y Fortuna, 2006; Yanniotis et al., 2006; Gómez-Díaz et al., 2009; Kumar y Mandal, 2009).

En la siguiente figura (Figura 1) se puede observar que todas las muestras de miel de *Apis mellifera* cumplen con los valores establecidos en la normativa vigente para la regulación según la FAO (2001) y MEIC-MAG (2020) Reglamento técnico RTCR 500: 2020, para los parámetros de contenido de agua y viscosidad.

Figura 1.
Distribución de los valores de contenido de agua y viscosidad de las muestras de miel de abeja (*Apis mellifera*) de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.



En la figura (Figura 1) se puede apreciar que el contenido de agua y viscosidad están inversamente relacionadas entre sí. El contenido de agua en la miel puede variar significativamente y afectar su viscosidad de manera notable. En general, a medida que aumenta el contenido de agua, la miel tiende a volverse menos viscosa, esto se debe principalmente a que el agua actúa como un agente de dilución, rompiendo las interacciones entre las moléculas de azúcares, y de esta manera se reduce la viscosidad. Resumiendo, el contenido de agua afecta el comportamiento reológico de la miel, ya que una miel con contenido de agua adecuado tiende a comportarse de manera más cercana a un fluido newtoniano, mientras que variaciones drásticas en el contenido de agua influyen la viscosidad y la capacidad para fluir de manera consistente.

Determinación del contenido de Acidez libre:

El 100% de las muestras analizadas, en relación con el contenido de acidez libre, se encuentran dentro del rango establecido en la normativa vigente para la regulación según la FAO (2001) y MEIC-MAG (2020) Reglamento técnico RTCR 500: 2020, ya que todas las muestras presentan valores inferiores a 55meq/kg.

Tabla 2.

Porcentaje de contenido de acidez libre obtenidos en las muestras de miel de *Apis mellifera* procedentes de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.

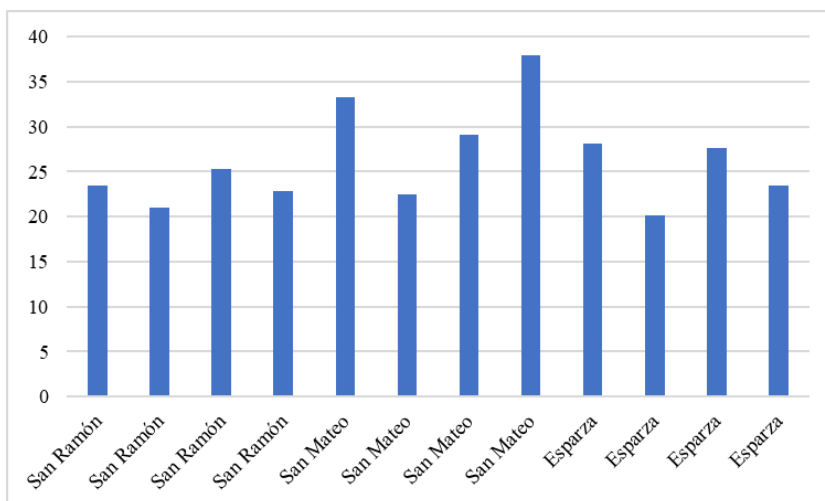
Muestra de miel	Comunidades de la cuenca del río Barranca	Acidez libre $\pm 1\text{meq/kg}$
1	San Ramón	23
2	San Ramón	21
3	San Ramón	25
4	San Ramón	23
5	San Mateo	33
6	San Mateo	23
7	San Mateo	29
8	San Mateo	38
9	Esparza	28
10	Esparza	20
11	Esparza	28
12	Esparza	23

Los resultados obtenidos en cuanto a contenido de acidez libre en este trabajo (Tabla 2) son similares a los encontrados por Taylor, (2021) en mieles de Costa Rica de diferentes orígenes geográficos y botánicos, las cuales presentaron niveles mínimos de 19 meq/kg y máximo de 24 meq/kg. El valor mínimo encontrado en este trabajo fue 20 meq/kg, mientras que el valor máximo encontrado fue 38 meq/kg, lo cual indica que todas las muestras se encuentran dentro del rango permitido.

Esto es indicativo de que todas las mieles analizadas presentan calidad y frescura. La acidez libre en la miel aumenta durante el almacenamiento. También influye en el sabor y aroma de la miel, de modo que mieles con niveles apropiados pueden contribuir positivamente a las características organolépticas deseables para el consumidor. (Bogdanov et al., 1999). Asimismo, la acidez puede ser indicativo del origen botánico, ya que existen mieles que poseen perfiles de acidez característicos (Piazza et al., 2016).

En la siguiente figura (Figura 2) se puede observar que todas las muestras de miel de *Apis mellifera* cumplen con los valores establecidos en la normativa vigente para la regulación según la FAO (2001) y MEIC-MAG (2020) Reglamento técnico RTCR 500: 2020, para el parámetro de acidez libre presente en la miel.

Figura 2.
Distribución de los valores de acidez libre de las muestras de miel de abeja (*Apis mellifera*) de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.



Determinación del contenido de Hidroximetilfurfural (HMF) y actividad de la enzima

Diastasa:

Los resultados obtenidos del contenido de hidroximetilfurfural y actividad de la enzima diastasa para las 12 muestras analizadas de miel de *Apis mellifera* se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3.

Porcentaje de contenido de hidroximetilfurfural y actividad de la enzima diastasa obtenidos en las muestras de miel de *Apis mellifera* procedentes de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.

Muestra de miel	Comunidades de la cuenca del río Barranca	HMF ± 1	Diastasa
1	San Ramón	<LD	20 ± 2
2	San Ramón	<LC	22 ± 2
3	San Ramón	<LD	11 ± 1
4	San Ramón	5	15 ± 2
5	San Mateo	9	27 ± 3
6	San Mateo	5	28 ± 3
7	San Mateo	<LD	21 ± 2
8	San Mateo	203	10 ± 1
9	Esparza	17	34 ± 3
10	Esparza	<LD	14 ± 1
11	Esparza	19	14 ± 1
12	Esparza	6	25 ± 3

*Valor fuera de rango
 LD (Límite de Detección): 1.2mg/kg
 LC (Límite de cuantificación): 3mg/kg

En relación con el contenido de hidroximetilfurfural, 11 muestras se encuentran dentro del rango establecido en la normativa vigente para la regulación la FAO (2001) y MEIC-MAG (2020) Reglamento técnico RTCR 500: 2020, ya que presentan valores iguales o menores a 80 mg/kg. Una de las muestras, la 8 correspondiente a la zona de San Mateo presentó un resultado de 203,4 mg/kg de HMF, lo cual hace referencia a un valor que superó el rango permitido, esto podría ser debido a un procesamiento inadecuado, condiciones de almacenamiento deficientes o bien un almacenamiento prolongado. Sin embargo, debido a que dicha miel es de la cosecha 2023, al igual que las otras, el factor de almacenamiento prolongado quedaría descartado y posiblemente el valor excesivo de HMF puede estar más relacionada con el procesamiento o almacenamiento inadecuado. El HMF se forma cuando los azúcares presentes en la miel se degradan debido a la exposición al calor, acidez o humedad durante el procesamiento y almacenamiento.

La exposición al calor excesivo puede desencadenar la formación de HMF (Ruoff et al., 1995). La miel almacenada durante largos períodos o en condiciones inadecuadas, como humedad excesiva o altas temperaturas, propicia la formación de HMF (Pita-Calvo et al., 2015). En cuanto a calidad y sabor, niveles superiores de HMF influyen de manera negativa, ya que podrían generar un sabor amargo o tostado que no son deseables para los consumidores (Terrab et al., 2004).

Altos niveles de HMF podrían resultar perjudiciales para la salud y se asocian con la posible presencia de compuestos tóxicos, por ello son importantes para garantizar la seguridad alimentaria (Dziezak, 2009).

En un estudio realizado por Khalil et al. (2010) también encontraron algunas muestras de miel con valores de HMF superiores al límite permitido. El contenido de HMF en muestras de miel fresca de Malasia almacenadas durante 3 a 6 meses estuvieron dentro del valor recomendado internacionalmente, mientras que las muestras de mieles almacenadas por periodos más largos (12 a 24 meses) presentaron concentraciones de HMF mucho más altas.

Al presentarse niveles óptimos en cuanto a HMF, esto es indicativo de frescura de la miel, mencionando que cuanto menor sea el contenido de HMF, mayor será la frescura y calidad de la miel. (Schievano et al., 2018).

Al evaluar la actividad de la enzima diastasa, este parámetro es importante para evaluar la calidad y frescura de la miel, esta enzima se encuentra en la miel y es sensible al calor y tiempo de almacenamiento.

Cuanto mayor es la actividad de la enzima diastasa, más fresca es la miel, ya que esta enzima se degrada con el tiempo debido a la exposición al calor y almacenamiento prolongado (Bogdanov, 2009). En países, como Costa Rica, existen límites reglamentarios para la presencia de la enzima diastasa en la miel, en este trabajo de investigación todas las mieles analizadas resultaron óptimas en este parámetro, presentando valores superiores a 8 unidades Gothe, lo cual es indicativo que cumplen con lo estipulado en la normativa vigente para la regulación según la FAO (2001) y MEIC-MAG (2020) Reglamento técnico RTCR 500: 2020.

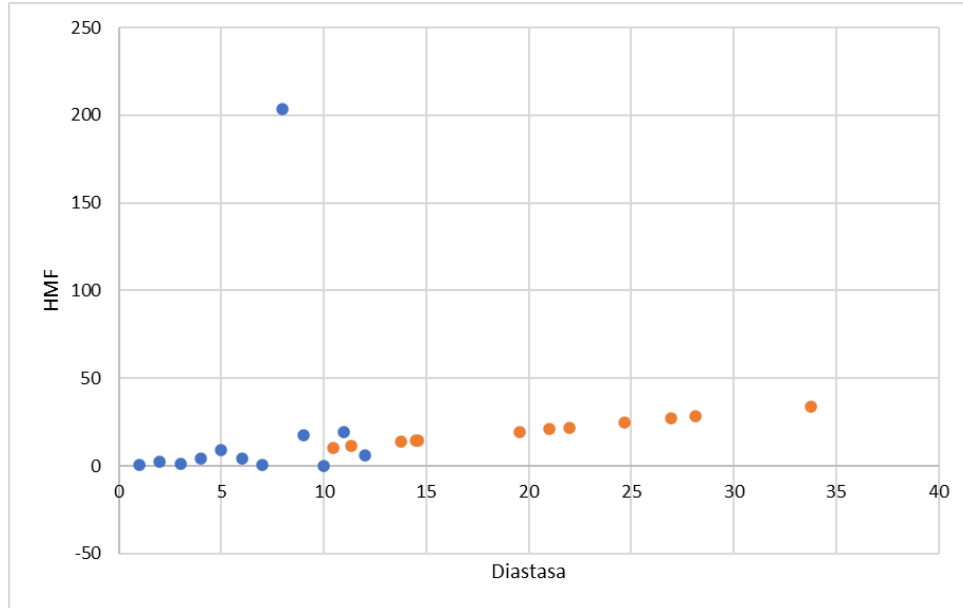
La falta de actividad de diastasa en la miel podría indicar un procesamiento inadecuado, como el calentamiento a altas temperaturas, lo cual degrada esta enzima (Anklam, 1998). Asimismo, está relacionada con la seguridad alimentaria, ya que algunos patógenos no pueden sobrevivir en la miel debido a la acidez y actividad enzimática, incluida la diastasa (Schneider, 2010).

El 100% de las muestras analizadas, en relación con el contenido de la enzima diastasa, se encuentran dentro del rango establecido en la normativa vigente para la regulación según la FAO (2001) y MEIC-MAG (2020) Reglamento técnico RTCR 500: 2020. Estos resultados difieren a los encontrados por Deras-López, (2021) en mieles de Costa Rica, en donde se presentaron valores fuera del rango permitido para dicho parámetro.

En la siguiente figura (Figura 3) se puede observar que todas las muestras de miel de *Apis mellifera* cumplen con los valores establecidos en la normativa vigente para la regulación según la FAO (2001) y MEIC-MAG (2020) Reglamento técnico RTCR 500: 2020, para los contenidos de hidroximetilfurfural y actividad de la enzima diastasa.

Figura 3.

Distribución los valores de contenido de hidroximetilfurfural y actividad de la enzima diastasa de las muestras de miel de abeja (*Apis mellifera*) de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.



Determinación del contenido de Azúcares:

Los resultados obtenidos del contenido de Azúcares para las 12 muestras analizadas de miel de *Apis mellifera* se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4.
Porcentaje del contenido de azúcares obtenidos en las muestras de miel de *Apis mellifera* procedentes de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.

Muestra de miel	Comunidades de la cuenca del río Barranca	Contenido de Azúcares (% m/m)				
		Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Índice Fructosa/Glucosa	Σ Azúcares
1	San Ramón	37,5 ±0,7	32,2 ±0,6	< LC	1,16 ±0,03	70 ±1
2	San Ramón	37,1 ±0,7	31,5 ±0,6	< LC	1,18 ±0,03	69 ±1
3	San Ramón	37,3 ±0,7	32,0 ±0,6	1,2 ±0,02	1,17 ±0,02	69 ±1
4	San Ramón	37,6 ±0,7	33,2 ±0,7	< LC	1,13 ±0,03	70 ±1
5	San Mateo	37,1 ±0,7	31,9 ±0,6	< LC	1,16 ±0,03	69 ±1
6	San Mateo	37,7 ±0,7	30,7 ±0,6	< LC	1,23 ±0,03	68 ±1
7	San Mateo	37,5 ±0,7	31,9 ±0,6	< LC	1,18 ±0,03	69 ±1
8	San Mateo	36,1 ±0,7	29,4 ±0,6	< LC	1,23 ±0,03	66 ±1
9	Esparza	37,6 ±0,7	25,4 ±0,5	< LC	1,48 ±0,03	63 ±1
10	Esparza	37,0 ±0,7	32,3 ±0,6	< LC	1,15 ±0,03	69 ±1
11	Esparza	37,8 ±0,8	31,4 ±0,7	< LC	1,20 ±0,03	69 ±1
12	Esparza	37,9 ±0,8	31,1 ±0,6	< LC	1,22 ±0,03	69 ±1

LC (Límite de Cuantificación: ≤0.6g/100g)

El contenido de azúcares es un parámetro que influye en el sabor, textura y calidad en la miel de abejas. Naturalmente, la miel está compuesta por un porcentaje elevado en cuanto a azúcares, principalmente glucosa y fructosa, y esta proporción puede variar de acuerdo con el tipo de miel y el origen floral.

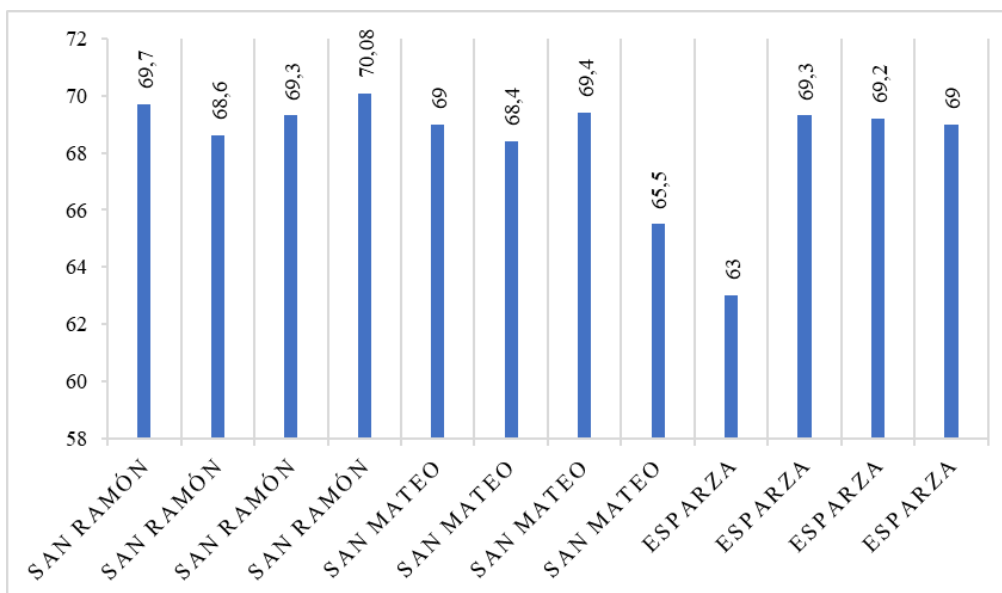
El 100% de las muestras analizadas, en relación con el contenido azúcares, se encuentran dentro del rango establecido en la normativa vigente para la regulación según la FAO (2001) y MEIC-MAG (2020) Reglamento técnico RTCR 500: 2020. Estos resultados son similares a los encontrados por Taylor (2021) en mieles de Costa Rica, en donde todas las muestras se encuentran dentro de los parámetros permitidos; por otro lado, difiere de los encontrados por Deras-López (2021), también en mieles de Costa Rica, pero arrojando datos que no se encuentran dentro de los parámetros permitidos, en donde se detectaron varias muestras adulteradas con jarabes altos en fructosa.

La proporción de azúcares es importante debido a que influye en su sabor y aroma característicos, ya que existen diferentes tipos de miel que poseen perfiles de azúcares únicos que contribuyen a sus características organolépticas y esto aporta un valor agregado al producto que se desea comercializar (Terrab et al., 2002).

Por otra parte, la relación entre la glucosa y fructosa en la miel afecta su textura y tendencia a la cristalización, es decir, cuanta mayor proporción de glucosa exista en la miel esta tenderá a la cristalización más rápidamente, mientras que una mayor proporción de fructosa tiende a retrasarla (White, Jr. et al., 1962).

Cabe mencionar que el análisis de azúcares presentes en la miel es fundamental para la detección de posibles adulteraciones, como, por ejemplo, la adición de jarabe de azúcar o jarabe de maíz de alta fructosa. Niveles anormales de azúcares pueden ser indicativos de adulteración (Codex Alimentarius Commission, 2001).

Figura 4.
Distribución del contenido de azúcares de las muestras de miel de abeja (*Apis mellifera*) de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.



Análisis melisopalinológico:

Las especies botánicas identificadas mediante el análisis melisopalinológico de las 12 muestras analizadas de miel de *Apis mellifera* se muestran en la Tabla 5, en donde podemos observar que el 100% de las muestras provenientes de las comunidades del río Barranca presentan una gran diversidad de polen. Sin embargo, se realizaron cálculos para la medición de los índices de diversidad botánica utilizando la metodología de Shannon-Wiener, en donde se corroboró que el cantón de San Mateo presentó la mayor diversidad botánica ($D=2,147$) en contraposición con los cantones de San Ramón ($D=1,912$) y Esparza ($D=1,830$).

Como lo muestran los resultados obtenidos, el análisis melisopalinológico en la miel de abejas es un método importante para determinar el origen botánico, lo cual proporciona información sobre la flora que las abejas visitaron para la recolección de néctar y polen. Este análisis permitió identificar las fuentes botánicas predominantes, lo cual determina su origen floral, esta información es valiosa para los apicultores, productores de miel y consumidores interesados en conocer y saber la autenticidad y las características particulares de la miel, en este sentido las muestras de miel identificadas (Von Der Ohe et al., 2004).

Además, este análisis es útil para verificar la autenticidad de la miel y garantizar de esta forma que es un producto 100% puro de abejas melíferas, lo cual también sirve para la detección de posibles adulteraciones o mezclas con otras mieles (FAO, 2001).

El análisis melisopalínológico se utiliza en investigaciones ecológicas para estudiar las interacciones entre las plantas y las abejas, como también la biodiversidad en áreas de recolección de néctar y polen (Vásquez et al., 2007). Asimismo, se utiliza en estudios científicos para determinar el origen geográfico de la miel para establecer denominaciones de origen y valorizar mieles específicas (Terrab et al., 2003).

En este trabajo se pudo interpretar que dependiendo la zona en donde se encuentren las colmenas, la interacción de las abejas con las plantas presentes está bastante relacionada. De acuerdo con los resultados, se determinó que las plantas que se encuentran dentro de la cuenca del río Barranca existen especies botánicas en común, como es el caso del *Brosimum alicastrum*, *Cecropia peltata*, *Inga sp*, *Melanthera nivea*, las cuales fueron dominantes según los resultados demostrados en la Tabla 5. Sin embargo, existen especies botánicas que solo se encuentran en un determinado cantón, como es el caso del *Pitheceilobium dulce* y la *Cupania guatemalensis* presentes en Esparza.

En las comunidades de San Ramón y San Mateo existen especies botánicas similares entre sí, como el *Brosimum alicastrum*, *Cecropia peltata* e *Ipomea trifida*, lo cual se puede observar en la Tabla 5

Las dos familias botánicas con más números de especies de acuerdo con la frecuencia de aparición fueron Fabaceae y Sapindaceae, lo cual también se puede apreciar en la Tabla 5.

La cosecha del año 2023 en estas zonas tuvo una fuente botánica dominante, el *Brosimum alicastrum*, conocido comúnmente como Ojoche. Esta información es importante para conservar y sembrar esta planta ya que provee de recursos a las abejas para la producción de miel, así también como las otras especies botánicas que poseen importancia para la cosecha de miel y para los productores de esas comunidades.

Tabla 5.

Especies botánicas identificadas en las muestras de miel de *Apis mellifera* procedentes de las comunidades de la cuenca del Río Barranca.

San Ramón		San Mateo		Esparza	
Especie	Frecuencia (%)	Especie	Frecuencia (%)	Especie	Frecuencia (%)
<i>Brosimum alicastrum</i>	25,3%	<i>Cecropia peltata</i>	20,0%	<i>Brosimum alicastrum</i>	29,5%
<i>Cecropia peltata</i>	20,9%	<i>Inga sp.</i>	19,2%	<i>Cecropia peltata</i>	20,7%
<i>Ipomea trifida</i>	16,5%	<i>Brosimum alicastrum</i>	17,5%	<i>Bombacopsis quinata</i>	19,4%
<i>Paullinia cururu</i>	15,8%	<i>Bignoniaceae</i>	10,7%	<i>Ceiba pentandra</i>	15,1%
<i>Inga sp.</i>	9,8%	<i>Psidium guajava</i>	7,8%	<i>Inga sp.</i>	6,5%
<i>Paullinia rugosa</i>	5,0%	<i>Ipomea trifida</i>	7,5%	<i>Melanthera nivea</i>	3,1%
<i>Ipomea asarifolia</i>	2,2%	<i>Bombacopsis quinata</i>	6,4%	<i>Pitheceilobium dulce</i>	1,6%
<i>Calycophyllum candidissimum</i>	2,0%	<i>Polygonum punctatum</i>	4,5%	<i>Aeschynomene sensitiva</i>	1,5%
<i>Sida acuta</i>	1,5%	<i>Bravaisia integerrima</i>	3,1%	<i>Paullinia cururu</i>	0,9%
<i>Melanthera nivea</i>	0,9%	<i>Melanthera nivea</i>	2,0%	<i>Sida acuta</i>	0,9%
Total San Ramon	100%	<i>Calycophyllum candidissimum</i>	0,7%	<i>Cupania guatemalensis</i>	0,8%
		<i>Ceiba pentandra</i>	0,3%	Total Esparza	100%
		<i>Combretaceae sp1.</i>	0,3%		
		Total San Mateo	100%		

En la tabla que se observa a continuación (Tabla 6), se observaron en dos muestras una dominancia de un tipo de polen superior al 45%, según los conteos de frecuencia realizados en las láminas.

Tabla 6. Especies botánicas identificadas con más del 45% de dominancia en las muestras de miel de *Apis mellifera* procedentes de las comunidades de San Mateo y Esparza

Muestra	Familia/Especie botánica	Cant. Polen	Frecuencia
7	<i>Brosimum alicastrum</i>	85	47%
	<i>Bravaisia integerrima</i>	40	22%
	<i>Cecropia peltata</i>	28	15%
	<i>Bignoniaceae</i>	18	10%
	<i>Tabernaemontana</i>	10	6%
	Total	181	
10	<i>Cecropia peltata</i>	110	56%
	<i>Brosimum alicastrum</i>	40	20%
	<i>Pitheceilobium dulce</i>	21	11%
	<i>Bombacopsis quinata</i>	12	6%
	<i>Paullinia cururu</i>	12	6%
	<i>Ceiba pentandra</i>	3	1%
	Total	198	

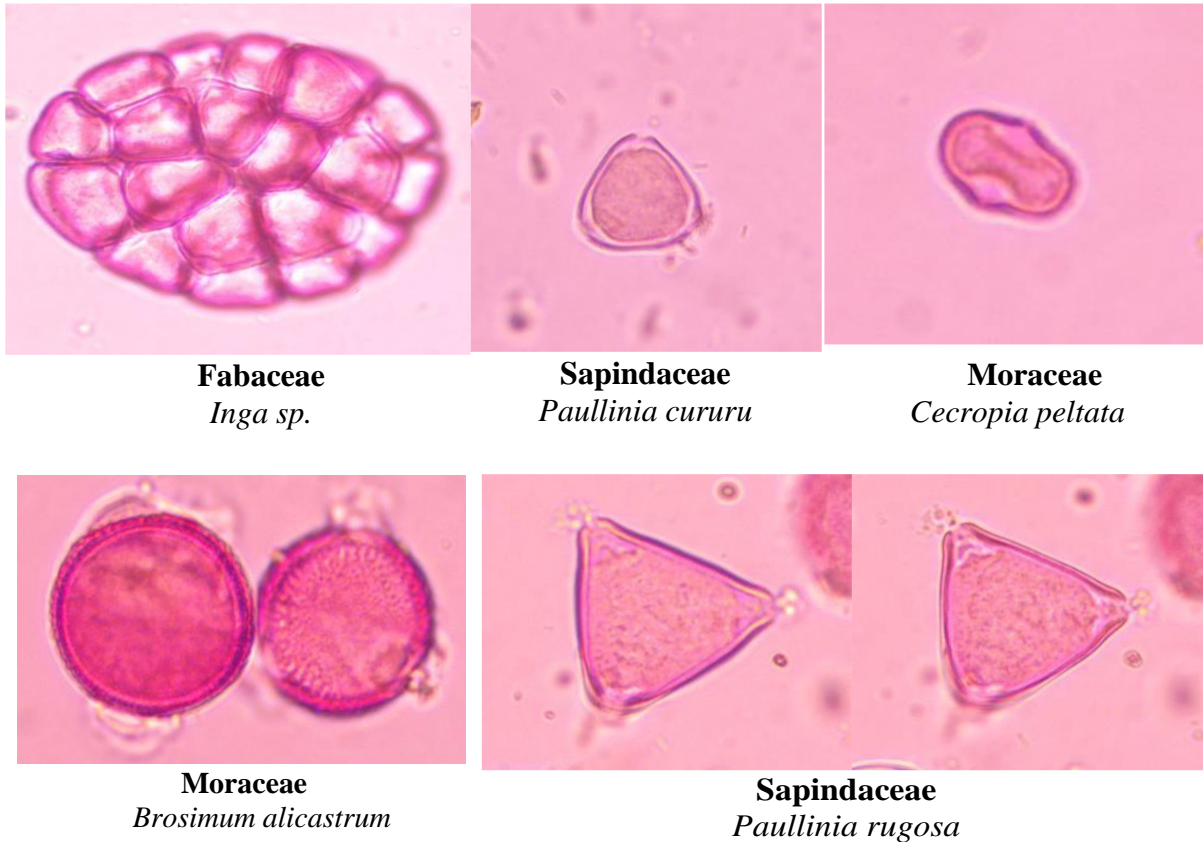
Una de las muestras, correspondiente a San Mateo presentó una dominancia del 47% de la especie *Brosimum alicastrum*, lo cual indica una dominancia con categoría 1 polen dominante; la muestra con dominancia alta de *Cecropia peltata* no se puede indicar como miel monofloral de esta especie, ya que la misma es una fuente de polen y no produce néctar como recompensa.

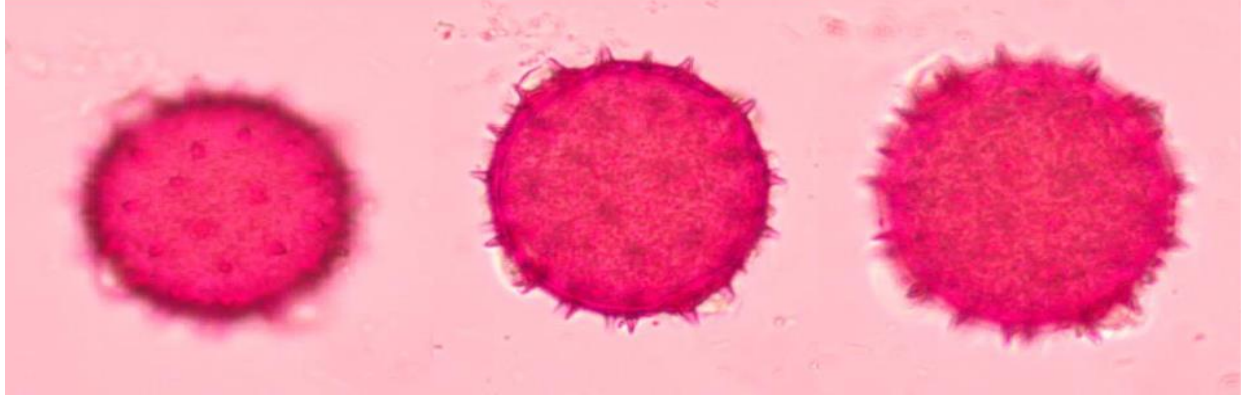
Según Arce et al. (2001) la especie *Cecropia peltata*, conocida comúnmente como Guarumo, posee flores durante todo el año y su importancia para las abejas radica en que es una fuente de polen.

Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que la mayoría de las mieles analizadas son de procedencia multifloral. Con estos resultados se acepta la hipótesis para la mayoría de los sitios de colecta los cuales indican que la miel es de naturaleza multifloral o polifloral. Este resultado concuerda con los encontrados por Taylor, (2021) y Gutiérrez, (2019).

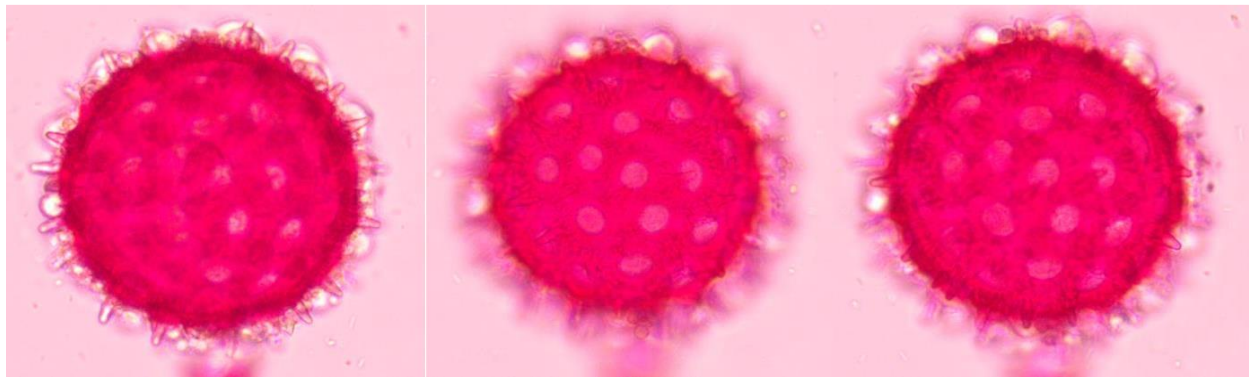
En la Tabla 7 se presentan las imágenes microscópicas de las principales familias y especies que ocurrieron con mayor frecuencia en las muestras de miel analizadas durante el análisis melisopalinológico. Se puede apreciar las diferencias en cuanto a la morfología de la exina, el tamaño, las aberturas, las aperturas y los ornamentos, los cuales son elementos propios para la caracterización de los diferentes granos de polen y son de gran utilidad para su identificación taxonómica.

Tabla 7.
Granos de polen identificados en las muestras de miel de *Apis mellifera* procedentes de las comunidades de San Ramón, San Mateo y Esparza.

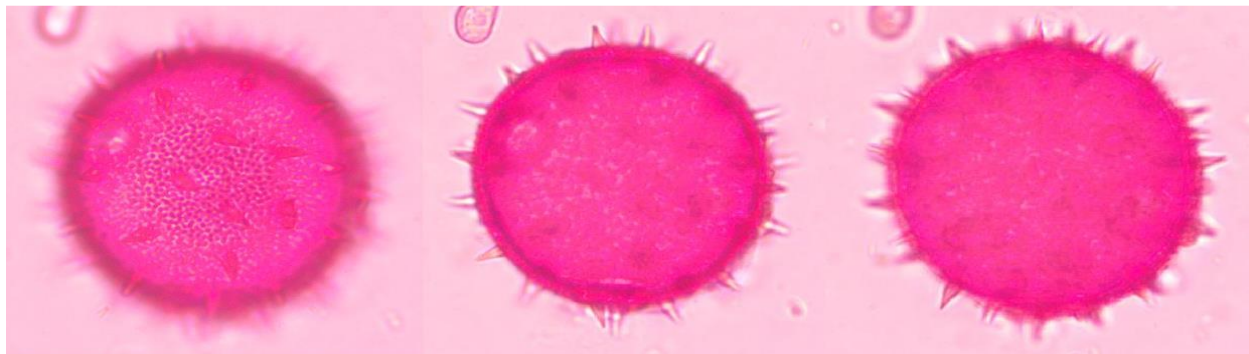




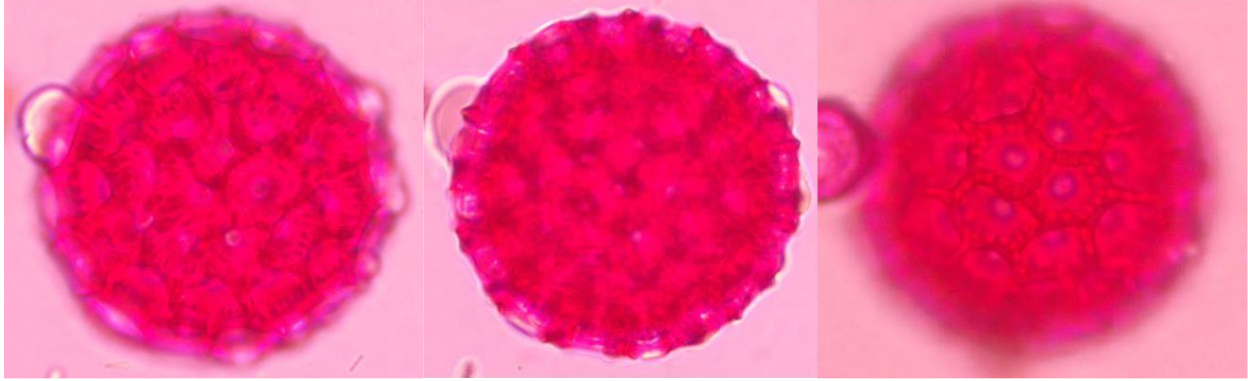
Convolvulaceae / *Ipomoea carnea*



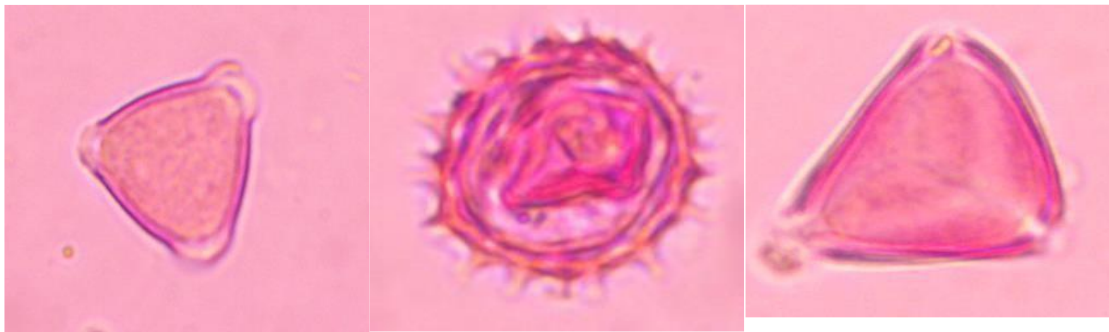
Malvaceae / *Sida acuta*



Convolvulaceae / *Ipomea trifida*



Polygalaceae / *Polygonum punctatum*



Myrtaceae
Psidium guajava

Asteraceae
Vernonanthura patens

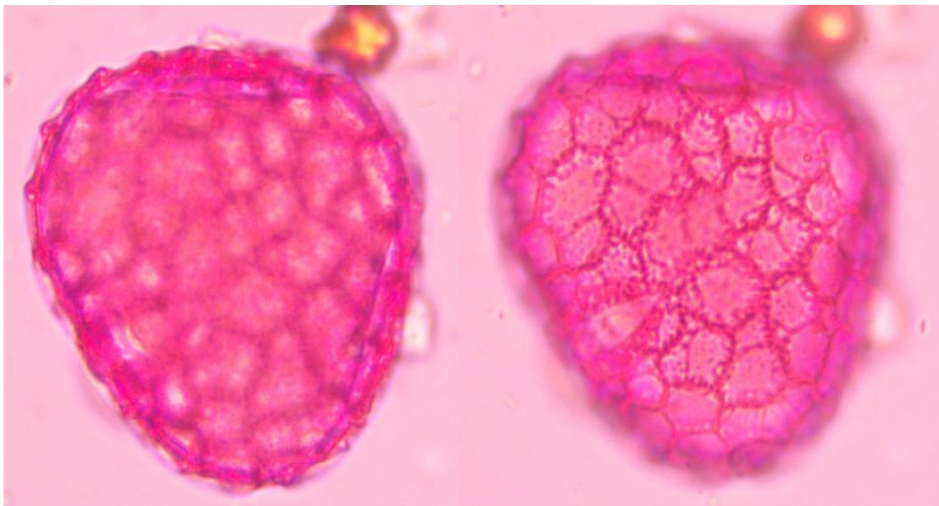
Sapindaceae
Cupania guatemalensis.



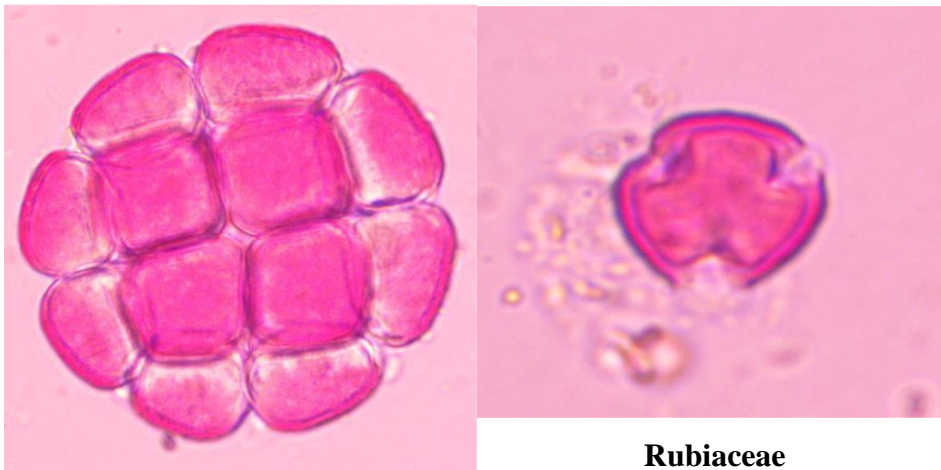
Bombacaceae / *Bombacopsis quinata*



Acanthaceae / *Bravaisia integerrima*

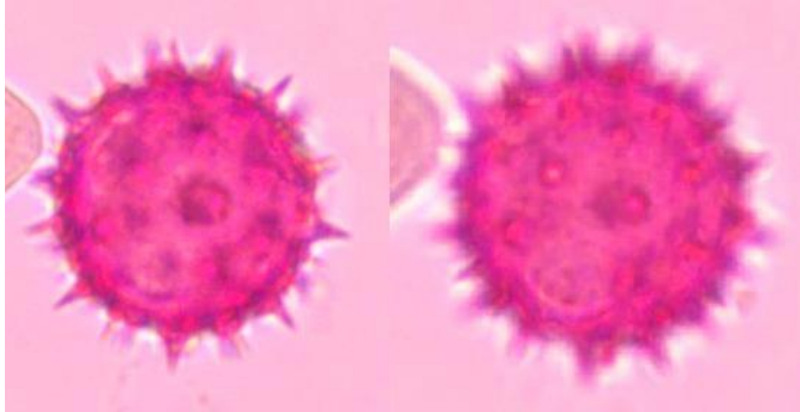


Bombaceae / *Ceiba pentandra*

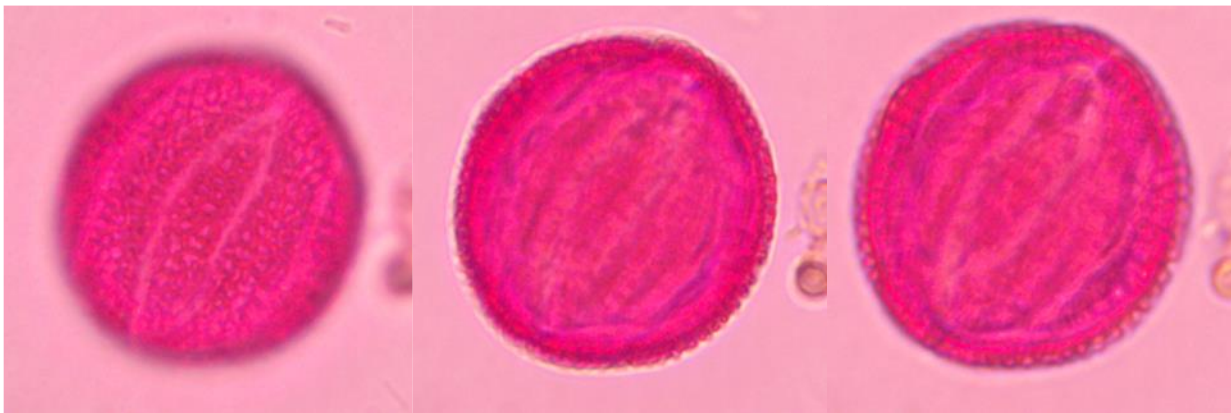


Fabaceae
Pithecellobium dulce

Rubiaceae
Calycophyllum candidissimum

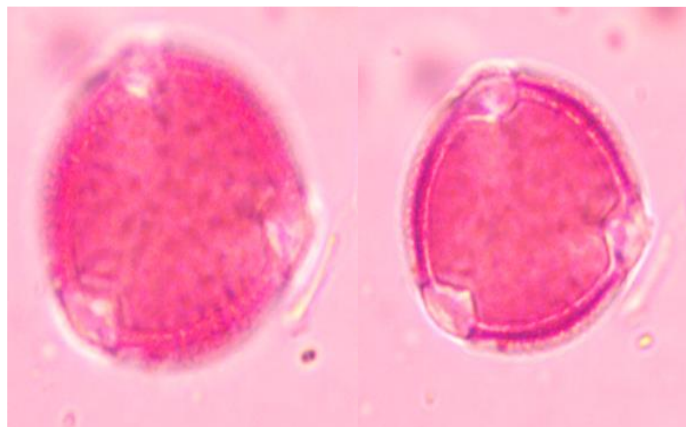


Asteraceae / *Melanthera nivea*



Bignoniaceae

Clytostoma binatum



Fabaceae

Aeschynomene sensitiva

CONCLUSIONES

Se determinó la calidad de las mieles de *Apis mellifera* mediante los parámetros fisicoquímicos y el origen botánico mediante técnicas melisopalinológicas de las tres comunidades de la cuenca del Río Barranca (San Ramón, San Mateo y Esparza).

El contenido de agua, acidez libre, actividad de la enzima diastasa, azúcares y viscosidad de las 12 muestras de miel analizadas cumplen con los parámetros de calidad establecidos por el Codex Alimentario (2001) y MEIC-MAG (2020) Reglamento técnico RTCR 500:2020. Con respecto al contenido de hidroximetilfurfural (HMF), 11 muestras cumplen con los parámetros de calidad establecidos.

Estos resultados obtenidos nos garantizan la autenticidad, seguridad, pureza y calidad de las mieles analizadas. Estos parámetros permiten a los productores y consumidores tener certeza de que el producto que están comercializando y consumiendo es de buena calidad. La miel de alta calidad es apreciada por su sabor y sus propiedades nutricionales, y esto se ve reflejado en la importancia que posee en la industria alimentaria y en la salud humana.

Se determinaron que la mayoría de las mieles analizadas poseen un origen botánico multifloral, en donde las familias más relevantes fueron: Acanthaceae, Asteraceae, Bombacaceae, Convolvulaceae, Fabaceae, Malvaceae, Moraceae, Myrtaceae, Polygalaceae y Sapindaceae.

Dos de las mieles analizadas resultaron con más del 45% de dominancia floral, clasificándose como miel de categoría 1 con presencia de polen dominante. La miel proveniente de la zona de San Mateo presentó una dominancia del 47% de la especie *Brosimum alicastrum* (Moraceae) y, la muestra correspondiente a Esparza presentó una dominancia del 56% de la especie *Cecropia peltata* (Moraceae), sin embargo, no se puede indicar como miel monofloral de esta especie, ya que la misma es una fuente de polen y no produce néctar como recompensa.

RECOMENDACIONES

Se recomienda para investigaciones futuras que otros investigadores repliquen este trabajo en otras zonas de Costa Rica, para tener un panorama más amplio con respecto a la calidad de las mieles y el origen botánico. Por ejemplo, resultaría interesante compararlos entre momentos de cosecha de miel, tiempos de almacenamiento, distintos manejos de procesamiento y envasado de la miel. Otro ejemplo con respecto al origen botánico estaría interesante conocer el origen de distintas zonas a nivel país y de esta manera poder caracterizar ciertos tipos de mieles de ciertas zonas del país con floración específica.

Asimismo, utilizar de base este trabajo para la replicación en otros países de Centroamérica y América del Sur.

Para mantener la calidad de la miel de abejas y que ésta cumpla con los parámetros exigidos por la normativa es importante mantener buenas prácticas apícolas, de manipulación y procesamiento para garantizar que la miel que se consume es de buena calidad.

Para obtener un contenido de agua dentro del rango óptimo es importante realizar la cosecha en el momento adecuado, es decir, cuando existe más del 80% de operculación de los panales. Las técnicas de extracción deben minimizar al máximo el contacto con agua y, los utensilios y equipos deben estar siempre limpios y secos. El almacenamiento debe ser en envases herméticos y en lugares con temperaturas frescas para evitar la absorción de la humedad del entorno.

Valores óptimos de acidez libre se logran evitando contaminaciones cruzadas, utilizando equipos y materiales limpios y sin residuos para evitar la contaminación de la miel con sustancias tóxicas. Con respecto al HMF, en especial a la muestra que obtuvo valores muy altos, se recomienda al apicultor evitar el calentamiento excesivo de la miel, que generalmente se realiza para facilitar el envasado, se debe asegurar que la temperatura no sea demasiado alta y que el tiempo de exposición al calor sea limitado para evitar la formación de HMF. Es importante también mantener una temperatura adecuada durante el almacenamiento de la miel y que este se encuentre en un lugar fresco y oscuro.

Para mantener niveles óptimos de diastasa debemos evitar el sobrecalentamiento de las mieles, por lo cual es recomendable el calentamiento ligero, procurando de no sobrepasar los 40°C.

Con respecto al origen botánico, es recomendable llevar un registro de la ubicación geográfica de las colmenas y las fuentes de néctar para garantizar la trazabilidad del origen botánico de la miel. Es importante ser buenos observadores para dar seguimiento a la floración y registrarlo

durante el año para así identificar las fuentes de néctar. Conocer el origen botánico proporciona al consumidor información sobre la procedencia de la miel.

Para asegurarnos que las abejas recolecten néctar de fuentes botánicas diversas y de calidad, es importante mantener siempre las colmenas saludables y ubicarlas en áreas donde exista mucha variedad de flora para los recursos de néctar y polen que son tan importantes para las abejas.

Siguiendo estas recomendaciones lograremos mantener y mejorar la calidad de la miel, cumpliendo con los parámetros deseados y garantizando la satisfacción de los consumidores.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 63, 549-562.
- Arce, H.G., Sánchez, L.A., Slaa, J., Sánchez, P.E., Ortiz, A., van Veen, J.W., Sommeijer, M.J. (2001). *Árboles melíferos nativos de Mesoamérica*. Herbario Juvenal Valerio Rodríguez. Heredia, Costa Rica. 208 p.
- Bedascarrasbure, E. (1998). La Apicultura como herramienta para el desarrollo. *Módulo NEA*, 1-7. <http://sada.org.ar/Boletines/80.htm>
- Belay, A., Solomon, W. K., Bultossa, G., Adgaba, N. y Melaku, S. (2013). Physicochemical properties of the Hareenna forest honey, Bale, Ethiopia. *Food Chemistry*, 141, 3386–3392. doi:10.1016/j.foodchem.2013.06.035
- Belitz, H. D. y Grosh, W. (1988). *Química de los alimentos*. (3ª ed.).
- Bogdanov, S., Ruoff, K. y Persano Oddo, L. (1999). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, 30(2-3), 143-164.
- Bogdanov, S., Ruoff, K. y Persano, L. (2004). Physico-chemical method for the characterization of unifloral honey: a review. *Apidologie*. 35(1), 4–17.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R. y Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: A review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27, 677–689. doi:10.1080/07315724.2008.10719745
- Bogdanov, S. (2009). Harmonized methods of the International Honey Commission. Disponible en: <http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf>
- Bogdanov, S. (2009). Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *LWT-Food Science and Technology*, 42(2), 657-664.
- Bogdanov, S., Martin, P. y Lulmann, C. (2002). Métodos armonizados de la Comisión Internacional de la Miel, EU Council: Council Directiva 2001/110/EC, relating to Honey. *Oficial Journal of the European Communities*, L10, 47-52.
- Cavia, M. M. (2002). Aging studies of honeys from Burgos and Galicia: Influence of the induced granulation. [Doctoral Thesis in the University of Burgos].
- Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. A., Gómez-Alonso, E., Montes- Pérez, M. J., Huidobro, J. F. y Sancho, M. T. (2002). Evolution of fructose and glucose in honey over one year: Influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 78, 157– 161. doi:10.1016/S0308-8146(01)00393-4

- Cavia, M. M., Fernández-Muiño, M. A., Alonso-Torre, S. R., Huidobro, J. F. y Sancho, M. T. (2007). Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 100, 1728–1733. doi:10.1016/j.foodchem.2005.10.019
- Chifa, C., Montenegro, S.B., Avallone, C. M. y Pire, S.M. (2002). Calidad polínica de las mieles producidas en el Departamento Güemes de la provincia del Chaco - Argentina. *Beekeeping*. http://www.beekeeping.com/articulos/pollen_chaco.htm
- Chirife, J., Zamora, M. C. y Motto, A. (2006). The correlation between water activity and % moisture in honey: Fundamental aspects and application to Argentine honeys. *Journal of Food Engineering*, 72, 287–292. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.12.009
- Crane, E. (1976). *Honey, a comprehensive survey*. Heinemann; London, UK; 608pp.
- De Lorenzo, C. (1999). La miel de Madrid. *Boletín agrario de la Comunidad Autónoma de Madrid*, 20, 27-45.
- Deras López, V. A. (2021). *Caracterización fisicoquímica de muestras de miel de Apis mellifera, comercializada en la zona occidental de la Gran Área Metropolitana (GAM) de Costa Rica*. [Trabajo presentado para optar al grado de Máster en Apicultura Tropical. Universidad Nacional de Costa Rica].
- Díaz Camaño, C.A. (2003). *Determinación del origen floral y caracterización física y química de mieles de abeja (Apis mellifera L), etiquetadas como "miel de ulmo" (Eucriphya cordifolia Cav.)*. [Tesis en Ciencias Agrarias].
- Díaz-Forestier, J., Gómez, M. y Montenegro, G. (2008). Secreción de néctar de quillay. Una herramienta para una apicultura sustentable. *Agronomía y Forestal*, 35, 27-29.
- Doner, L. W. (2003). In Caballero, B., Finglas, P. M. y Trugo, L. C. (Eds.). *Honey*. Encyclopedia of food sciences and nutrition (2nd ed.). (pp. 3125–3130). London: Academic Press.
- Dziezak, J. D. (2009). Honey's hidden risks. *Food Technology*, 63(2), 24-34.
- Estupiñán, S., Sanjuan, E., Millán, R. y González-Cortés, M. A. (1998). Honey quality parameters. Microbiology, physicochemical properties and aging. *Alimentaria*, 296, 89–94.
- FAO (2001). Standard for Honey, Codex Stan 12-1981. <https://www.fao.org>
- FAO (2003). Código Internacional de Prácticas Recomendado. Principios Generales de Higiene de los Alimentos CAC/RCP 1-1969, Rev. 4.
- Fallico, B., Zappalá, M., Arena, E. y Verzera, A. (2004). Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*, 85, 305–313. doi:10.1016/j.foodchem.2003.07.010

- Fallico, B., Arena, E., Verzera, A. y Zappala, M. (2006). The European Food Legislation and its impact on honey sector. *Accreditation and Quality Assurance*, 11, 49–54. doi:10.1007/s00769-006-0128-6
- Gleiter, R. A., Horn, H. y Isengard, H. D. (2006). Influence of type and state of crystallisation on the water activity of honey. *Food Chemistry*, 96(3), 441–445. doi:10.1016/j.foodchem.2005.03.05
- González-Paramas, A. M., Báñez, J. A. G., García-Vilanova, R. J., Pala, T. R., Albajar, R. A. y Sánchez, J. S. (2000). Geographical discrimination of honeys by using mineral composition and common chemical quality parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 157–165. doi:10.1002/(SICI)1097-010(20000101)80:1<157::AIDJSFA506>3.0.CO;2-B
- Gokmen, V. y Morales, F. J. (2014). Processing contaminants. *Encyclopedia of food safety*, 2, 404–408.
- Gómez-Díaz, D., Navaza, J. M., Quintáns-Riveiro, L. C. (2009). Effect of temperature on the viscosity of honey. *International Journal of Food Properties* 12(2), 396–404.
- Gutiérrez Rivera, C. J. (2019). *Caracterización Fisicoquímica y Origen Botánico de Muestras de Miel de Apis mellifera, de la Provincia de Chiriquí-Panamá*. [Trabajo presentado para optar al grado de Máster en Apicultura Tropical. Universidad Nacional de Costa Rica].
- Graca, M. (1987). Contribucao para o estudo do mel, polen, geleia real e propolis. *Bol.Fac. Farmacia Coimbra*, 11(2), 17-47.
- Haydée, L. (1989). Análisis de calidad de miel. *Alimentos*, 14(4), 55-60.
- Huidobro, J. F., Sánchez, M. P., Muniategui, S. y Sancho, M. T. (2005). Precise method for the measurement of catalase activity in honey. *Journal of AOAC International*, 88, 800– 804. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16001855>
- Islam, M. N., Khalil, M. I., Islam, M. A. y Gan, S. H. (2014). Toxic compounds in honey. *Journal of Applied Toxicology*, 34, 733– 742. doi:10.1002/jat.2952
- Jeddar, A., Kharsany, A., Ramsaroop, U.G., Bhamjee, A., Hafejee, I.E., y Moosa, A. (1985). The antibacterial action of honey. *South African Medical Journal*, 67, 257–258
- Jirrnny, A. y Corzo, S. (2005). Estadística no paramétrica. Métodos basados en rangos. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de Estadística. Bogota, Colombia. 89 p.

- Juszczak, L. y Fortuna, T. (2006). Rheology of selected Polish honeys. *Journal of Food Engineering* 73, 43–49.
- Kesic, A., Crnkic, A., Hodzic, Z., Ibrsimovic, N. y Sestan, A. (2014). Effects of botanical origin and ageing on HMF content in bee honey. *Journal of Scientific Research & Reports*, 3, 1057–1066. <http://www.sciencedomain.org/abstract/3970>
- Khalil, M. I., Sulaiman, S. A. y Gan, S. H. (2010). High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9), 2388–2392. doi:10.1016/j.fct.2010.05.076
- Kumar, J. S. y Mandal, M. (2009). Rheology and thermal properties of marketed Indian honey. *Nutrition and Food Science* 39(2), 111–117.
- Mannan, M. A., Gan, S. H. y Latif, M. A. (2008). Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography: determination of antioxidant capacity. *BioMed Research International*.
- Mato, I., Huidobro, F., Sánchez, P., Muniategui, S., Fernández, M. y Sánchez, T. (1997). Enzimatic determination of total D-gluconic acid in honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3550-3553.
- MEIC-MAG (2020). Reglamento técnico RTCR 500: 2020 Productos apícolas. Miel de Abejas. Especificaciones N° 43180-.
- Montenegro, A. (2002). Índice de cristalización y parámetros de calidad en miel de abeja. Universidad autónoma de Chiriquí, Panamá.
- Mora Escobedo, R., Echazarreta González, C. y Moguel Ordóñez, Y. B. (2005). Calidad fisicoquímica de la miel de abeja *Apis mellifera* producida en el estado de Yucatán durante diferentes etapas del proceso de producción y tipos de floración. *Técnica Pecuaria en México*, 43(3), 323-334. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61343303>
- Morales Najarro, X. M. (2021). *Caracterización botánica de miel de abeja (Apis mellifera L.) de la reserva de la biosfera" Sierra de Manantlán", Jalisco, México* [Tesis doctoral].
- Norma Oficial para la Miel de Abejas. No 13991-MEC. (1982). *La Gaceta N° 224. Ministerio de Economía y Comercio*. San José. 4 p.
- Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA) (2004). Manual de buenas prácticas apícolas para la producción de miel. SENASA.

<https://www.senasa.go.cr.https://ManualdeBuenasPracticasenlaProduccionPrimariaenApicultura.pdf>

- Louveaux, J. L., Maurizio, A. y Vorwohl, G. (1970). Methods of Melissopalynology. *Bee World*, 125-138.
- Louveaux J., Maurizio A. y Vorwohl G. (1978). Methods of Melissopalynology. *Bee World*, 59, 139–157.
- Perez-Arquillué, C. (1994). Physicochemical attributes and pollen spectrum of some unifloral Spanish honeys. *Food Chemistry*, 54(2), 167–172. doi:10.1016/0308-8146(95)00022-b
- Pérez- Arquillué, C., Conchello, P., Ariño, A., Juan, T. y Herrera, A. (1995). Physicochemical attributes and pollen spectrum of some unifloral Spanish honeys. *Food Chemistry*, 54 (2), 167-172.
- Pérez Villarreal, P. (2019). *Evaluación de parámetros fisicoquímicos de acuerdo a lo establecido por la normativa boliviana en muestras de miel de abeja comercializadas en la ciudad de la paz durante la gestión 2019* [Tesis de postgrado presentada para la obtención del Grado de Magister Scientiarum]
- Piazza, M. G., Nardini, M., Piaggese, A., Dell'Orto, V. y Buiatti, S. (2016). Honey authentication: a comparison between optical and physical methods. *Food Chemistry*, 204, 305-313.
- Pineda Ballesteros, E., Castellanos Riveros, A., y Téllez Acuña, F. R. (2019). Determinantes fisicoquímicos de la calidad de la miel: una revisión bibliográfica. *Cuadernos de Desarrollo Rural*, 16(83). <https://doi.org/10.11144/Javeriana.cdr16-83.dfc>
- Pita-Calvo, C. y Vázquez, M. (2015). Valorization of unifloral honeys from Tenerife (Canary Islands) according to their melissopalynological and physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 167, 130-138.
- Ribeiro, R. de O. R., Mársico, E. T., Carneiro, C. da S., Monteiro, M. L. G., Conte Júnior, C. A., Mano, S. y de Jesús, E. F. O. (2014). Classification of Brazilian honeys by physical and chemical analytical methods and low field nuclear magnetic resonance (LF 1H NMR). *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 90–95. doi:10.1016/j.lwt.2013.08.004
- Roudaut, G. y Debeaufort, F. (2011). Moisture loss, gain and migration in foods. Food and beverage stability and shelf life. *Cambridge: Woodhead Publishing Limited*, 63–105.

- Ruoff, K., Luginbühl, W. y Bogdanov, S. (1995). Determination of hydroxymethylfurfural in honey: a comparison between high-pressure liquid chromatography and spectrophotometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(3), 754-757.
- Sabatini, A. G. (2007). *Il miele: Origine, composizione e proprietà*. In Sabatini, A. G., Botolotti, L. y Marcazzan, G. L. (Eds.), *Conoscere il miele* (pp. 3–37). Bologna-Milano: Avenue Media.
- Sáez Pérez, S. D. (2020). *Parámetros fisicoquímicos de calidad de miel de abeja (Apis mellifera) producida en Colombia*. [Trabajo presentado para optar al título de Químico, Universidad de Córdoba].
- Saíenz-Laín, C., Gómez-Ferreras, C. (2000). Mielles Españolas. Características e identificación mediante el análisis de polen. *Editorial Mundi-Prensa*.
- Sánchez, L. (2001). Métodos de análisis palinológicos. Centro de Investigaciones Apícolas Tropicales, Heredia, Costa Rica.
- Sánchez, C. (2003). Crianza y Producción de Abejas. *Apicultura. Colección Granja y Negocio*.
- Sanz, M. L., González, M. M. y Martínez-Castro, I. (2002). La miel de Madrid. Los azúcares de la miel. *Consejería de Economía e Innovación Tecnológica*, 95–108.
- Salamanca Grosso, G, Henao Rojas, C., Moreno, I. y Luna, A. (2001). Características microbiológicas de las mieles tropicales de *Apis mellifera*. *Galería Apícola virtual. Apiservices*.
- Sawyer, R. (1988). Honey identification. *Cardiff Academic Press*.
- Schievano, E., Morelato, E., Facchin, C. y Mammi, S. (2018). HMF formation in natural honeys stored under controlled conditions. *Food Chemistry*, 269, 258-266.
- Schneider, C. (2010). Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey Commission. *Bee World*, 91(1), 10-16.
- Shannon, C.E., Weaver, W. (1949). *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press. Urbana, IL, EEUU. 144 pp.
- Sher, H., Abbas, S. y Sher, S. (2018). Rheological, Physicochemical and Sensory Properties of Honey Samples Collected from Different Regions of Pakistan. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), e13474.
- Serra-Bonvehí, J., Soliva-Torrentó, M. y Muntané-Raich, J. (2000). Invertase activity in fresh and processed honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 507–512. doi:10.1002/(SICI) 1097-0010(200003)80:4<507:AID-JSFA558>3.0.CO;2-5.

- Simal, J., Huidobro, J. y Araquistain, J. L. (1983). Parámetros de calidad de la miel: determinación del contenido en agua. *Offarm*, 2, 243–248.
- Sodré, G. S., Marchini, L. C., Moreti, A. C. C. C., Otsuk, I. P. y Carvalho, C. A. L. (2011). Physico-chemical characteristics of honey produced by *Apis mellifera* in the Picos region, state of Piauí, Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40, 1837–1843. doi:10.1590/S1516-35982011000800030
- Sopade, P. A., Halley, P. J., Bhandari, B., D'Arcy, B. R., Doeblner, C. y Caffin, N. (2002). Application of the Williams Landel Ferry model to the viscosity temperature relationship of Australian honeys. *Journal of Food Engineering* 56, 67–75.
- Spano, N., Casula, L., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., Scanu, R. y Sanna, G. (2006). An RP-HPLC determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey. The case of strawberry tree honey. *Talanta*, 68, 1390–1395. doi:10.1016/j.talanta. 2005.08.003
- Taylor De la O, E. (2021). *Caracterización por zona y procedencia floral y determinación de la calidad de la miel de Apis mellifera comercializada por la empresa Blue zones*. [Trabajo presentado para optar al grado de Máster en Apicultura Tropical. Universidad Nacional de Costa Rica].
- Telleria, M. C. (1997). *III Curso Básico de Palinología Aplicada a la Tipificación de Mieles*. Dpto. de Producción Animal - Zootecnia (Animales Menores de Granja); Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, U.N.L.P. La Plata, Argentina. <http://www.sada.org.ar/Boletines>
- Terrab, A., Recamales, A. F. y Heredia, F. J. (2002). Characterization of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry*, 76(1), 77-83.
- Terrab, A., Recamales, A. F. y Heredia, F. J. (2003). Characterization of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry*, 81(1), 93-101.
- Terrab, A., Recamales, A. F. y Heredia, F. J. (2004). Characterization of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry*, 88(4), 537-542.
- Turhan, I., Tetik, N., Karhan, M., Gurel, F. y Tavukcuoglu, H.R. (2008). Quality of honeys influenced by thermal treatment. *LWT-Food Science and Technology*, 41, 1396–1399. doi:10.1016/j.lwt.2007.09.008
- Umaña, E. (2006). Análisis de miel de abeja para su control de calidad: pruebas físicas y químicas. *Revista Notas Apícolas*, 11, 9-16.

- Vanghn, M. B. J. y Gretchen, D. J. (2001). The R-Values of Honey: Pollen coefficients. *Polinology*, 5, 1-24.
- Vásquez, A., Olofsson, H. y Stenström, A. (2007). Diversity of flower-visiting bees in cereal fields: effects of farming system, landscape composition and regional context. *Biological Conservation*, 139(3-4), 405-414.
- Vit, P., Herrera, P., Rodríguez, D. y Carmona, J. (2008a). Caracterización de polen apícola fresco recolectado en Cacute, en los Andes venezolanos. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 39, 7-11.
- Von Der Ohe, W., Persano Oddo, L., Piana, M. L., Morlot, M. y Martin, P. (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35, 18-25.
- Wang, S., Guo, Q., Wang, L., Lin, L., Shi, H., Cao, H. y Cao, B. (2015). Detection of honey adulteration with starch syrup by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 172, 669–674. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.044>
- White, J. W. y Doner, L. W. (1962). Honey composition and properties. *Beekeeping in the United States Agriculture Handbook*, 335.
- White, J. W. (1957). The composition of honey. *Bee World*, 38, 57–66. doi:10.1080/0005772X.1957.11094976
- White, J.W. (1975). *La colmena y la abeja melífera*. Hamilton: Editorial hemisferio sur, 397–428.
- White, J. W. (1979a). Composition of honey. In E.E. Crane (Ed.), *Honey: A comprehensive survey* (2a ed.). (pp. 157– 206). ISBN 978-0434902705.
- Witczak, M., Juszczak, L. y Gałkowska, D. (2011). Comportamiento no newtoniano de la miel de brezo. *Revista de Ingeniería de Alimentos*, 104(4), 532–537. doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.01.01
- Wunderlin, D. A., Pesce, S. F., Amé, M. V. y Faye, P. F. (1998). Decomposition of hydroxymethylfurfural in solution and protective effect of fructose. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46, 1855–1863. doi:10.1021/jf9710140
- Yanniotis, S., Skaltsi, S. y Karaburnioti, S. (2006). Effect of moisture content on the viscosity of honey at different temperatures. *Journal of Food Engineering* 72, 372–377.
- Yoo, B. (2004). Effect of temperature on dynamic rheology of Korean honeys. *Journal of Food Engineering* 65, 459–463.
- Zamora, G., Arias, M. L., Aguilar, I. y Umaña, E. (2012). Costa Rican Pot-Honey: Its Medicinal Use and Antibacterial Effect. *Pot-Honey*, 507–512. doi:10.1007/978-1-4614-4960-7_37